R EXD.

Dezembro, 1958

Tomo 56

Fascículo 2

COMMONWEALTH INST. OF ENTOMOLOGY LIBRARY
13 NOV 1959
SERIAL C.S.A.T
SEPARATE

MEMÓRIAS

DO

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Brasil

1959 (see inside cover)

CONTEÚDO

MAGALHÃES, OCTÁVIO — Campanha Antiofídica em Minas Gerais 291

LUTZ, BERTHA — Anfíbios novos e raros das Serras Costeiras do Brasil 373

DIAS, EMMANUEL, e SEREBRENICK, SALOMÃO — Aspectos Climáticos da distribuição dos transmissores da doença de Chagas no Vale do Rio São Francisco 407

ARAGÃO, MARIO B. — Algumas medidas microclimáticas em Mata da região "Bromélia-Malária", em Santa Catarina. I — Temperatura do ar, umidade relativa e evaporação 415

BARTH, RUDOLF — Métodos usados em microanatomia e histologia entomológica 453

KRAU, LUIZA — Modificações no Plancton da Enseada de Inhauma, antes e depois da Poluição 473

DIAS, VINICIUS e SILVA, NIBER P. M. — Diferenciação entre Listeria monocytogenes e Erysipelothrix rhusiopathiae com o Clorêto de Trifeniltetrazólio 477

TEIXEIRA DE FREITAS, J. F. — Estudos sôbre "Oxyascarididae" (Travassos, 1920) (Nematoda, Subuluroidea) 489

BARTH, RUDOLF — Sôbre o órgão glandular do aparelho copulador do macho de *Prodenia ornithogalli* Gn. (Lepidoptera, Noctuidae) 561

PIMENTA DE MELLO, R., SANTA ROSA, G. e ALMEIDA LOPES, P. F. — Recentes técnicas para coloração de protozoários em tecidos 571

BARTH, RUDOLF — Estudos anatômicos e histológicos sôbre a subfamília Triatominae (Heteroptera, Reduviidae) X. Parte: Espermiohistogênese do *Triatoma infestans* 577

CURIAL, O. e GUIMARÃES, J. P. — Cirrose Hepática Enzoótica no Cavalo 635

LACOMBE, DYRCE — Contribuição ao estudo dos Embiideos. V. Polimorfismo sexual da região cefálica de *Embolyntha batesi* Mac Lachlan 1877 (*Embiidina, Embiidae*) 655

ZAJCIW, DMYTRO — Estudos sôbre Longicórneos Neotrópicos (Coleoptera, Cerambycidae) 685

(Fascículo distribuído em julho, 1959)

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo 56 Fascículo 2 Dezembro de 1958

Campanha Antiofídica em Minas Gerais *

Octávio de Magalhães

(Com 30 gravuras e 1 mapa)

O trabalho compreenderá:

1.º — Histórico.
2.º — Como trabalhamos.
3.º — Estatística, contendo dados sôbre cobras recebidas;
— espécies venenosas,
— espécies não venenosas.
4.º — Observações clínicas de acidentes, sensibilização pelo veneno e soroterapia.
5.º — Conclusões.

Capítulo I

HISTÓRICO

Há meio século, (27 de junho de 1907), fundava-se em Belo Horizonte o Laboratório de Microbiologia, que tão grande influência teria em Minas Gerais: a filial do Instituto Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro.

Êste Instituto tomou o nome de Ezequiel Dias, em homenagem ao seu fundador, transformando-se, mais tarde, no Instituto Biológico Ezequiel Dias.

Escolhemos, de fato, êste mês, para a realização do presente trabalho, efetuado, em grande parte, dentro das paredes daquela modesta Instituição e que servirá de documentação, ainda uma vez, para a história da pesquisa em Minas Gerais. Êle deveria ser planejado e feito em colaboração com o Dr. Evandro de Barros, que era assistente do Instituto Biológico Ezequiel Dias, quando da sua volta do Curso de Especialização que fôra fazer na Europa. O destino, porém, não quis que assim se

(*) — Trabalho do Instituto Oswaldo Cruz (Centro de Estudos de Belo Horizonte). Instituto Ezequiel Dias. Laboratório de Fisiologia da Faculdade de Medicina da U.M.G. — 1957 (Junho).

Recebido para publicação, em 20-3-1958.

fizesse. Na Alemanha, onde fôra completar os seus estudos sôbre Anatomia Patológica, êle morreu, após intensivo curso na "Charité" de Berlim, como assistente efativo do Prof. Rössle.

Fôra êle incumbido, após o afastamento dos Profs. Eurico Villela e Oswaldo de Melo Campos, da supervisão da seção antiofídica, com João Baeta da Costa, no Instituto Biológico Ezequiel Dias. Muitos pormenores nos poderiam, talvez, ser fornecidos para o presente trabalho.

É bem verdade, todavia, que nos últimos anos, por uma questão de alergia pelos venenos, êle se afastara com João Baeta da Costa, da respectiva seção, por algum tempo. Felizmente, pelos meus Relatórios enviados ao Govêrno de Minas e ao Diretor do Instituto Oswaldo Cruz no Rio de Janeiro, consegui reaver numerosos dados de algum interêsse e que constitúem a base da presente contribuição.

O histórico da organização do Pôsto Antiofídico em Minas Gerais está descrito na página 196, dos meus "Ensaios".

Em 9 de julho de 1917, já organizada a filial do Instituto Oswaldo Cruz em Belo Horizonte, o ilustre escritor mineiro, Dr. Gustavo Pena, fazia, à Sociedade Mineira de Agricultura, a seguinte proposta: "Indico que a Sociedade Mineira de Agricultura represente ao Poder Legislativo do Estado, sôbre a necessidade de ser criado, nesta Capital, um Pôsto de Socorro antiofídico, nos moldes aconselhados pelo Instituto Butantan de São Paulo, podendo se encarregar da sua instalação, o Instituto Oswaldo Cruz, de Belo Horizonte."

O trabalho de propaganda do Dr. Gustavo Pena foi utilíssimo e eficiente. Ezequiel Dias, então Diretor da Filial do Instituto Oswaldo Cruz, entendeu-se com o Govêrno de Minas e Vital Brazil, Diretor do Instituto Butantan.

Em 27 de outubro de 1917, recebeu Ezequiel Dias um orçamento pormenorizado para a fundação do Pôsto Antiofídico em Belo Horizonte. Em 1 de fevereiro de 1918, foi assinado um contrato entre o Govêrno do Estado e o Instituto Oswaldo Cruz, Filial, para o funcionamento dêsse Pôsto.

Escrevi nos "Ensaios" os pormenores dêsse contrato e o orçamento para o seu funcionamento (páginas 197/202, ob. cit.). Naquele livro transcrevi, também, a correspondência entre Ezequiel Dias, Vital Brazil e o Ministro da Viação, para a execução da obra.

Fazia parte, naquela época, da filial o sábio Professor Eurico Villela, a quem foi entregue o serviço do Pôsto, tendo-se construído um serpentário, modêlo de Butantan.

Pelo contrato com Vital Brazil, colher-se-íam os venenos, separadamente para cada espécie de cobra venenosa, de acôrdo com o método de Vital Brazil. Dessecavam-se os venenos e remetíamos os mesmos em tubos fechados a lâmpada, pelo Correio, ao Instituto Butantan e depois ao Vital Brazil, em Niterói, recebendo, em tróca, o seguinte: 1 empôla de sôro contra o Crotalus terrificus terrificus por 300 miligramas de

veneno; 1 empôla de sôro antibotrópico por 500 miligramas de veneno; 1 empôla de sôro contra o Micrurus por 30 miligramas de veneno.

O serpentário de então foi construído pelo modêlo de Butantan e custou, na época, cêrca de Cr$ 5.000,00 (cinco mil cruzeiros)! (Vide fotografia na página 18 de Ensaios).

Para o funcionamento do Pôsto Antiofídico, deveríamos gastar Cr$ 37.340,00. No livro — Ensaios — transcrevo aquêle contrato, que trazia as assinaturas dos professôres Arthur da Costa Guimarães, Ezequiel Caetano Dias e as testemunhas Francisco Narbona e José Américo Machado.

Em nosso Relatório ao Secretário da Agricultura de Minas Gerais, em 1922, dissemos:

"Fundado há 5 anos, o Pôsto Antiofídico de Minas, anexo a êste Instituto (Oswaldo Cruz, Filial), vem gradativamente se avolumando até os nossos dias, podendo-se dizer que constitui, hoje, elemento valioso para a profilaxia do ofidismo em Minas."

Mais adiante afirmamos o seguinte:

"Ao assumir a Diretoria do Instituto, cuidamos, desde logo, de melhorar as condições do contrato que esta Casa mantinha com o ilustre mineiro Vital Brazil."

Devíamos, em média, todos os anos, cêrca de 50,63% aos nossos fazendeiros, fornecedores de matéria-prima (cobras venenosas) e quase outro tanto ao Instituto Vital Brazil. Foi incumbido o então Assistente do Instituto, hoje Professor Oswaldo de Melo Campos, a quem o Instituto Ezequiel Dias deve trabalhos valiosos, de se entender sôbre a matéria com o Dr. *Vital Brazil*. Êste, nobremente, aquiesceu em baixar para 60 miligramas de qualquer veneno, a tróca por um tubo de sôro. Iríamos, então, pagar as dívidas que nos assoberbavam. Resolvemos, para incentivar os fornecedores, enviar, quando possível, como prêmio, uma seringa para injeção do sôro e essa medida deu os melhores resultados, de acôrdo com numerosas cartas que em resposta, recebemos.

Lembramos, também, naquele ano, a possibilidade de a Secretaria de Agricultura do Estado de Minas distribuir boletins impressos aos senhores agricultores. Com esta base, vamos mostrar como trabalhávamos.

Capítulo II

COMO TRABALHÁMOS

As normas de trabalho, desde o início, foram estabelecidas e orientadas por Vital Brazil e pelos professôres Ezequiel Dias, Eurico Villela e Oswaldo de Melo Campos e nos primeiros anos de funcionamento do Pôsto.

Havia um grande livro, onde se escrevia o nome do fornecedor, município a que pertencesse, o enderêço certo, com as colunas respectivas

para cobras venenosas adultas, filhotes e cobras não venenosas, quantidade de sôro remetida, de modo que tínhamos uma espécie de contra-corrente com os nossos fornecedores dos diversos Municípios do Estado. Por uma simples inspeção, sabia-se quanto nós devíamos de sôro e quanto os fazendeiros precisavam mandar em cobras.

Depois de alguns anos de trabalho, mandei que se organizassem boletins impressos, contendo, não só o movimento de cobras venenosas ou não venenosas, adultas ou filhotes, mortas e vivas, como tôda a distribuição de caixas, laços, requisições, etc.

Êsses boletins davam, no fim do ano, a impressão de todo o movimento do Pôsto (vide anexos).

Remetíamos aos fazendeiros, caixas (vide desenho junto) com laços, aos quais só era necessário colocar um cabo alongado de madeira e, conjuntamente, um folheto de propaganda e rótulos com o enderêço do Instituto.

No laboratório, empregávamos, além do laço de Lutz, um gancho para apanhar os ofídios.

Aos fornecedores de maior porte, enviávamos ainda um livro de VITAL BRAZIL sôbre o ofidismo, além da seringa já referida, como recompensa aos seus esforços em bem servir à campanha.

As caixas para transporte dos ofídios tinham despacho grátis nas Estradas de Ferro do Estado e da União, dentro de Minas, e eram recolhidas, diáriamente, nas estações de Belo Horizonte, pelos encarregados de transportes.

Em 1922, já dizia o meu ilustre antecessor: "O desenvolvimento máximo dos nossos trabalhos ficará, em grande parte, dependendo de novas facilidades de transportes, já pelo avançamento de boas vias de penetração, como a Estrada de Ferro Paracatú, ramal de Montes Claros, o prolongamento de Pirapóra a Belém do Pará, etc., já pelo estabelecimento de tráfego mútuo entre as administrações diferentes, como Central do Brasil, Curralinho a Diamantina, Leopoldina e Vitória-Minas, Central e as Companhias de Navegação do São Francisco".

Naquele ano eu apelava para o Secretário da Agricultura de Minas, para que desse um cunho prático a êsse apêlo do Prof. EZEQUIEL DIAS, que sinceramente renovávamos. Dêsse modo, talvez fôsse possível ampliar as nossas relações, dos 109 atuais, para os 178 municípios mineiros. Êsses trabalhos foram reforçados, em 1923, pelo Tése n.º 3, do Congresso das Municipalidades, o qual aprovou, entre outras, as seguintes medidas: "As municipalidades deverão auxiliar os Institutos Antiofídicos, distribuindo as armadilhas, caixas de transportes e instruções deles expedidas, remetendo-lhes a cobra venenosa capturada."

Foi, devido a esta medida tão patriótica, que tomamos a liberdade de enviar, aos senhores presidentes das Câmaras Municipais, a circular cuja cópia junto publicamos. Infelizmente, dos 178 municípios em que se devidia, naquela época, o Estado, 10 apenas responderam ao nosso apêlo: Montes Claros, Mar de Espanha, Monte Santo, São Sebastião do

Paraíso, Rio Casca, Palmira, Pirapóra, Campos Gerais, São João Del Rei e Vila Rezende Costa.

Naquela época, apenas 6 câmaras municipais nos enviaram cobras: Oliveira, Itajubá, Contagem, Itauna, Araxá, Santa Rita do Sapucaí. Isto, é claro, não nos trouxe desânimo, mas demostrou, claramente, qual foi a nossa luta pelo caminho que tivemos de percorrer.

As caixas que chegavam eram esvaziadas, transportando-se para os serpentários os ofídios, tendo, antes, o cuidado de retirar o veneno. Fazíamos esta extração em todos os ofídios recolhidos ao serpentário, de 15 em 15 dias. As caixas eram limpas, retocadas quando necessário e redespachadas, imediatamente, para os fazendeiros, quando possível, 48 horas depois.

No comêço dos trabalhos do Pôsto, surgiram, naturalmente, várias dúvidas sôbre as espécies de ofídios encontrados, consultando nós, nestes casos, os Professôres Vital Brazil e Adolpho Lutz. Mais tarde, tudo era feito no próprio Instituto Filial de Manguinhos, pelos técnicos da seção.

Os boletins a que nos referimos páginas atrás, eram, a princípio, escritos à máquina. Depois é que foram impressos, quando a verba foi suficiente para isto.

Capítulo III

Estatística, contendo dados sôbre cobras recebidas

Vamos fornecer alguns dados estatísticos expressivos, dos resultados dos nossos trabalhos. É claro que foram programadas e feitas excursões científicas, neste ano, ao interior do Estado, qual novas "bandeiras" científicas que o Mestre já havia estabelecido em Manguinhos.

Recebemos, em 1922, 1.316 ofídios venenosos, assim distribuídos:

Crotalus terrificus terrificus	580
Bothrops jararaca	310
Bothrops neuwiedii	233
Bothrops alternata	115
Bothrops atrox	43
Bothrops jararacussú	21
Micrurus frontalis	14

Recebemos, também, 429 cobras não venenosas, num total de 1.745. Um estudo comparativo com os anos anteriores mostra o seguinte:

Em 1918	336	serpentes.
1919	901	"
1920	1.630	"
1921	1.840	"
1922	1.748	"

Havia um Pôsto em Juiz de Fóra, o qual nos desviava muitas "Bothrops". Mesmo assim, a percentagem dos ofídios venenosos recebidos em 1922 foi de 75%, expressando que a campanha antiofídica continuava a preencher os seus fins.

SERVIÇO ANTIOPHIDICO DO ESTADO DE MINAS

INSTITUTO EZEQUIEL DIAS

CAIXA POSTAL, 26B BELLO HORIZONTE

Ilmo. Sr.

Saudações.

Tendo sido instalado neste Instituto um Pôsto antiophidico, estaremos promptos a mandar-lhe laço e caixas proprios para a captura e transporte de cobras, desde que V.S. se digne enviar o pedido com as indicações precisas e de seu enderêço.

Receberemos com muito prazer qualquer espécie e número de cobras que V. S. queira encaminhar para este Instituto, e enviar-lhe-emos, em troca de cada cobra venenosa, viva, que V. S. nos mandar, 1 tubo do sôro preparado pelo Dr. VITAL BRAZIL, contra o veneno ophidico.

As caixas com cobras destinadas ao Instituto gosam de despacho livre e gratuito nas estradas de ferro e companhias de navegação, quer federaes, quer particulares, por autorização do Ministério da Viação e Obras Públicas e de seus respectivos directores.

Dentro das caixas seguem rótulos com o endereço desta repartição, bastando V. S. accrescentar nêles o nome e a residência de V. S., assim como o número de cobras que contém a caixa.

Agradecendo de antemão o interêsse que V. S. tomar pelo nosso pedido, aproveitamos o ensejo para nos subscrevermos com estima e consideração,

De V. S. Am.º Att.º e Ob.º

Director

OCTÁVIO DE MAGALHÃES

INSTITUTO EZEQUIEL DIAS

(OSWALDO CRUZ, Filial)

BELLO HORIZONTE

Ilmo. Sr. Presidente da Camara Municipal de

Saudações attenciosas.

Tomamos a liberdade de pedir a V. S. atenção para o que vamos expor.

O Congresso das Municipalidades Mineiras, tão patrioticamente convocado pela actual Govêrno de Minas, resolveu, na these III, lembrar entre outras as seguintes medidas:

"As municipalidades deverão auxiliar os Institutos anti-ophidicos, distribuindo as armadilhas, caixas de transporte e instrucções delles expedidas, remettendo-lhes as cobras venenosas capturadas".

O Instituto EZEQUIEL DIAS (Oswaldo Cruz, Filial) está nas condições do citado artigo, pois mantém um "Pôsto anti-ophidico" e mais do que nunca necessita do auxílio valioso das Municipalidades mineiras. Vimos, pois, lembrar a V. S. as seguintes medidas que podem desde já ser postas em prática em benéficio da campanha anti-ophidica no Estado.

1) As municipalidades, pelos seus Dirigentes, fornecerão a este Instituto a lista dos Fazendeiros do Município, com as respectivas indicações de residência.

2) De accordo com o modelo fornecido pelo Instituto (de custeio inferior à.....), mandarão fazer..... caixas e laços para a captura de ophidios, distribuindo-os pelos Fazendeiros, juntamente com os boletins e impressos fornecidos pelo Instituto.

3) Facilitarão, por todos os meios, o transporte de laços, caixas vasias ou com cobra, nas Estradas, Companhias de Automóveis, Fluviaes, etc., que cortem o Município.

4) Remetterão ao Instituto os ophidios capturados, e para os fazendeiros os laços, caixas e sôros quando para ahi remettidos.

O Instituto fornecerá um tubo de sôro anti-ophidico por cada cobra venenosa, adulta, chegada viva, e ministrará informações referentes ao assunpto.

As caixas destinadas a esta Filial gozam do direito de livre trânsito em tôdas as Estradas de Ferro que cortam o Estado.

OCTÁVIO DE MAGALHÃES

SERVIÇO ANTI - OPHIDICO DO GOVERNO DE MINAS

Ilmo. Sr. Diretor do Instituto EZEQUIEL DIAS, de Belo Horizonte.

Rogo enviar-me laços para captura e caixas para transporte de cobras.

Assinatura, por extenso, ...

Residência .....

Nome da Estação que o serve .....

Nome da Estrada de Ferro .....

Nome e endêreço do consignatário (se houver) .....

.....

OUTRAS INFORMAÇÕES QUE JULGAR INDISPENSÁVEIS:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

NOTA — Pede-se a maior clareza em todos os dados.

O Instituto fornece um tubo de um dos sôros anti-ophidicos preparados pelo Dr. Vital Brasil, de Nictheroy, em troca de cada cobra venenosa, viva, remetida ao Instituto.

As caixas, contendo cobras destinadas ao Instituto ESEQUIEL DIAS, de Belo Horizonte, gozam de despacho gratuito nas estradas de ferro, independentemente de quaisquer formalidades.

INSTITUTO "EZEQUIEL DIAS"

(Filial do INSTITUTO OSWALDO CRUZ)

Ilmo. Sr.

Saudações

Tomo a liberdade de chamar a vossa benevolente atenção para os têrmos da circular n.º 353, de 24 de julho de 1919, abaixo transcrita, afim de que este Instituto possa dar o máximo desenvolvimento aos serviços da campanha antiophidica.

Antecipadamente agradecido, apresento-vos os meus protestos de apreço e consideração.

Octávio de Magalhães
Diretor

Cópia da Circular Telegraphica n.º 353, de 24 de julho de 1919.

"De ordem do Sr. Dr. Director desta Estrada, em virtude de autorização do Exmo. Sr. Ministro da Viação contida no officio n.º 20 V/1.ª, de 16 do corrente mês podeis despachar gratuitamente e sem demora, dispensadas as formalidades da requisição, as caixas contendo cobras e outros animais, vivos ou mortos, que forem apresentados a despachos, desde que sejam consignados à Filial do Instituto Oswaldo Cruz, em Belo Horizonte. (a). F. Campos, pelo Chefe da Contabilidade."

Conforme.
Em 26 de julho de 1919

Edgard de O. Lima
Secretário da estrada

NOTA: — O grypho é nosso. A Filial do Instituto Oswaldo Cruz, em Belo Horizonte, é o Instituto Ezequiel Dias.

SERVIÇO ANTIOPHIDICO DE MINAS GERAES

INSTITUTO EZEQUIEL DIAS
CAIXA POSTAL, 26

Bello Horizonte,.. . de . . de 192 .....

Illmo. Sr. .....

Desejando intensificar a campanha antiophidica no Estado, o Instituto pede-lhe a fineza de preencher a lista, que segue, com os nomes e endêreços dos fazendeiros dêsse município para que possam entrar em relações de permuta de cobra venenosa por sôro antipeçonhento.

O Instituto conta com a preciosa colaboração de V. S., pois trata-se de um serviço que vai benéficiar principalmente os agricultores.

Receberemos com muito prazer qualquer especie e número de cobras que os fornecedores queiram encaminhar para êste Instituto, e enviar-lhe-emos, em troca de cada cobra venenosa chegada viva, um tubo de sôro preparado pelo Dr. Vital Brazil, contra o veneno ophidico.

As caixas com cobras destinadas ao Instituto gosam de despacho livre e gratuito nas estradas de ferro e companhias de navegação, quer federais, quer particulares, por autorização do Ministério da Viação e Obras Públicas e de seus respectivos diretores, independentemente de qualquer formalidade escrita.

Dentro das caixas seguem rótulos com o endereço desta repartição, bastando aos fornecedores acrescentarem nêles seus nomes e suas residências, assim como o número de cobras que contém a caixa.

Agradecendo de antemão o interêsse que V. S. tomar pelo nosso pedido, aproveitamos o ensejo para nos subscrevermos com estima e consideração.

De V. S. Am. Att. Obr.
Diretor

Octávio de Magalhães

INSTITUTO EZEQUIEL DIAS

BELLO HORIZONTE, RUA BAHIA, 2019

Boletim para ser completado e remetido ao Instituto

1) São comuns as picadas de cobra nessa zona?

R. .....

2) Quantos acidentes ocorrem por ano (número aproximado)? (Especificar os humanos e animais)

R. .....

3) Quantos mortaes?

R. .....

4) Qual o prejuízo por perdas de animais?

R. .....

5) Qual o tratamento empregado? (Informando o resultado obtido)

R. .....

6) Tem sido empregado o sôro?

R. .....

7) Em quantos casos e quais os resultados?

R. .....

8) Qual a cobra venenosa que produziu maior número de acidentes?

R. .....

9) Nos casos benignos, tem sido determinado com precisão si a cobra é venenosa?

R. .....

10) Qual a época em que são mais numerosos os acidentes?

R. .....

NOTA: — Acrescentar as informações que julgar conveniente.

Serpentes no Instituto Biológico Ezequiel Dias — Lachesis muta

INSTITUTO "EZEQUIEL DIAS"
SERVIÇO DO ESTADO DE MINAS GERAIS
POSTO ANTIOPHIDICO

Cobras não venenosas, chegadas durante o ano de 1938.----------

Adultas 204
Filhotes 15
Mortas 26
TOTAL 245

MESES	Xenodon merremii	Xenodon neuwiedii	Drômobius bifossatus	Drômobius brasili	Liophis poecilogyrus	Liophis almadensis	Liophis typhlus	Tomodon dorsatus	Oxyrhopus trigeminus	Oxyrhopus cloelia	Oxyrhopus guerini	Erythrolamprus aesculapii	Philodryas schotti	Philodryas olfersii	Philodryas serra	Philodryas nattereri	Boa constrictor	Eunectes murinus	Epicrates cenchris	Spilotes pullatus	Herpetodryas carinatus	Herpetodryas severinatus	Leptodira annulara	Rhadinea Merremii	Fetalognathus nebulatus	Coluber corais	Thamnodynastes nattereri	Apostolepis assimilis	Aporophis lineatus	Rhinostoma iglesiasi	Pseudablabes agasizii	Elapomorphus tricolor	Homoloc. melanocephalum	Sinophis rhinostoma	Sinophis rhodii	Outras cobras venenosas	TOTAL
Janeiro	5	0	3		16, 3fs			1		3ms		0	1	2			1	1f			1				3,2 fs												42
Fevereiro	6		1		2			1				2	4	1	2					1	1				1											1c	22
Março	10		2, 1m		7, 1m			0				0	1	1	2					2	1		3													coo, 111	32
Abril	2, 1f,		1		4, 3ms			1				1		1						1					2fs.											2..	21
Maio	3, 1m	1	5, 1m		1	1				1		3	2	1					1	1	1															2..	25
Junho	2		1, 2fs		0								1								1				2fs.												9
Julho	3		4		2				1						1				1																		12
Agôsto	6		2		0	1						1, 1m	2	1	0								1		1											..1	10
Setembro	1		2		2										1																					1..	14
Outubro	5, 1m		5		0	1m		2					2	3	1						1m				1												10
Novembro	1, 2ms		1		0			2				1		2	1m																					1c.o	
Dezembro	4,1f 2ms		1		2, 1m	1, 1m			1			1			1		3	1																		6.. ms	26
TOTAL	56	1	32		43	5		7	2	4		12	14	14	10		1	1	2	4	7		4		12											14	245

INSTITUTO "EZEQUIEL DIAS"

SERVIÇO DO ESTADO DE MINAS GERAIS

Relatório do movimento do Posto Anti-ophidico, durante o anno de 1938, com a distribuição por mezes, etc.

MEZES	Caixas	Laços	Requisições	Livros	Circulares	Envelopes	Rótulos	Conhecimentos	Telegramas enviados	Cartões	CARTAS		OFÍCIOS		Fornecedores novos	SÔRO								Veneno extraído	COBRAS RECEBIDAS							Mortas no Instituto
											Recebidas	Enviadas	Recebidos	Enviados		Anti-ophidico		Anti-bothropico		Anti-chrotatico		Total			Venenosas			Não venenosas			Total	
																Recebidos	Enviados	Recebidos	Enviados	Recebidos	Enviados	Recebidos	Enviados		Adultas	Filhotes	Mortas	Adultas	Filhotes	Mortas		
Janeiro	194	62	42	—	42	156	194	161	—	98	22	12	4	—					141	—	98	—	242		154	25	41	33	5	1	265	?
Fevereiro	102	12	—	—	—	102	102	—	—	69	12	6	—	—						—	—	—	—		114	27	15	22		—	178	96
Março	278	01	—	—	20	378	378	—	—	82	18	31	—	-					84	—	141	—	225		138	35	3	30		2	208	94
Abril	255	22	36	—	50	255	255	—	—	107	19	12	—	—					362	—	—	—	362		256	54	9	15	3	3	340	98
Maio	210	21	33	—	—	216	210	—	—	97	12	7	—	—					18	—	—	—	18		157	25	6	23	—	2	213	77
Junho	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	37	8	5	1	—					—	—	—	—	Jan., a jun 16,116	77	7	10	7	2	—	103	63
Julho	69	9	27	—	—	69	69	—	—	53	8	6	—	—					323	—	312	—	635		83	4	1	12		—	100	53
Agosto	96	12	17	—	—	96	96	—	—	20	9	6	—	—					516	—	—	—	516		46	4	5	10	-	—	65	24
Setembro	73	7	17	—	—	73	73	—	—	44	9	6	—	-					535	—	92	—	547		50	2	4	13	-	1	70	34
Outubro	105	12	—	—	—	105	105	—	—	52	17	6	—	—					100	—	—	—	100		74	2	6	19	—	3	104	39
Novembro	60	10	17	—	—	60	60	—	—	25	12	5	—	—					28	—	—	—	28		51	4	10	5	1	4	75	63
Dezembro	152	14	31	—	—	152	152	—	—	51	12	6	—						250	—	—	—	250	Jul. a Dez. 14, 670	76	19	2	15	1	10	123	57
TOTAL	1 694	191	220	—	112	1 656	1 594	161	—	744	158	108	5	—					2 360	—	563	—	2 923	30,786	1 276	208	115	204	15	26	1 844	699

INSTITUTO "EZEQUIEL DIAS"
SERVIÇO DO ESTADO DE MINAS GERAIS
POSTO ANTIOPHIDICO

Cobras venenosas, chegadas durante o anno de 1936

Adultas 1927

Mortas 75

TOTAL 2318

MEZES	C. Terrificus				L. Lanceolatus				L. Alternatus				L. Neuwiedii				L. Atrox				L. Jararacuçu				E. Corallinus				E. Corallinus				Outras cobras venenosas	TOTAL			
	Adultas	Filhotes	Morta	Total	Adultas	Filhotes	Mortas	Total	Adultas	Filhotes	Mortas	Total	Adultas	Filhotes	Mortas	Total	Adultas	Filhotes	Mortas	Total	Adultas	Filhotes	Mortas	Total	Adultas	Filhotes	Mortas	Total	Adultas	Filhotes	Mortas	Total		Adultas	Filhotes	Mortas	TOTAL
Janeiro	74	24	0	98	68	26	12	106	7	1	0	8	4	0	0	4	10	0	0	10	7	0	0	7	0	0	0	0	0	1	0	1	1	171	52	12	237
Fevereiro	71	6	3	80	69	13	1	83	4	0	0	4	30	2	1	3	2	0	0	2	6	0	0	6	1	0	0	1	0	0	0	0	0	183	21	5	209
Março	70	4	2	76	170	37	4	211	6	4	0	10	16	0	0	16	1	0	0	1	17	31	3	51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	280	7	9	365
Abril	90	9	0	99	111	38	5	154	17	1	1	19	25	1	0	26	2	0	0	26	2	0	0	2	1	0	0	1	0	1	0	1	0	265	54	6	325
Maio	80	2	1	83	114	10	8	132	13	0	0	13	23	2	1	26	3	0	0	3	20	1	0	21	3	0	0	3	0	0	0	0	0	256	15	10	281
Junho	61	0	0	61	48	1	2	51	5	3	1	9	7	0	1	8	1	0	0	1	7	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	129	4	4	137
Julho	38	3	1	42	27	1	1	29	7	1	1	9	5	0	0	5	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	79	5	3	87
Agosto	26	1	2	29	27	3	2	¼1	3	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	1	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	62	4	5	71
Setembro	37	5	0	42	30	2	0	32	4	0	0	4	2	0	0	3	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	74	7	0	81
Outubro	42	1	0	43	30	0	3	33	9	1	0	10	3	0	0	3	0	0	0	0 p	0	0	0	0 0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	85	2	3	90
Novembro	75	24	1	100	74	11	2	87	4	0	0	4	9	0	0	9	2	0	0	2	4	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	168	37	3	206
Dezembro	72	27	0	99	65	13	10	88	9	0	0	9	18	0	2	20	4	0	0	4	10	0	0	10	1	0	0	1	0	0	0	0	179	179	40	12	231
TOTAL	736	106	10	852	833	155	50	1 038	88	11	3	102	142	5	5	152	26	0	0	26	97	36	4	137	6	0	0	6	1	2	0	3	2	1 931	315	72	2 318

aumentando em número, como se póde ver no seguinte quadro:

1918	90	fornecedores,
1919	175	"
1920	401	"
1921	343	"
1922	360	"

Êstes 360 fornecedores representavam 109 municípios mineiros:

Naquele ano foram extraidas:

29,205gr de veneno crotálico e

56,526gr de veneno botrópico, assim distribuido:

Bothrops jararaca	17,674 gr.
" *atrox*	13,203 gr.
" *alternata*	10,419 gr.
" *neuwieddii*	9,860 gr.
" *jararacussú*	5,370 gr.

Foram enviados aos fazendeiros, 717 tubos, assim distribuídos:

anticrotálico (sôro)	166 tubos,
antiofídico (sôro)	329 tubos,
antibotrópico (sôro)	222 tubos,
antibotrópico (sôro)	222 tubos,
Total	717 tubos,

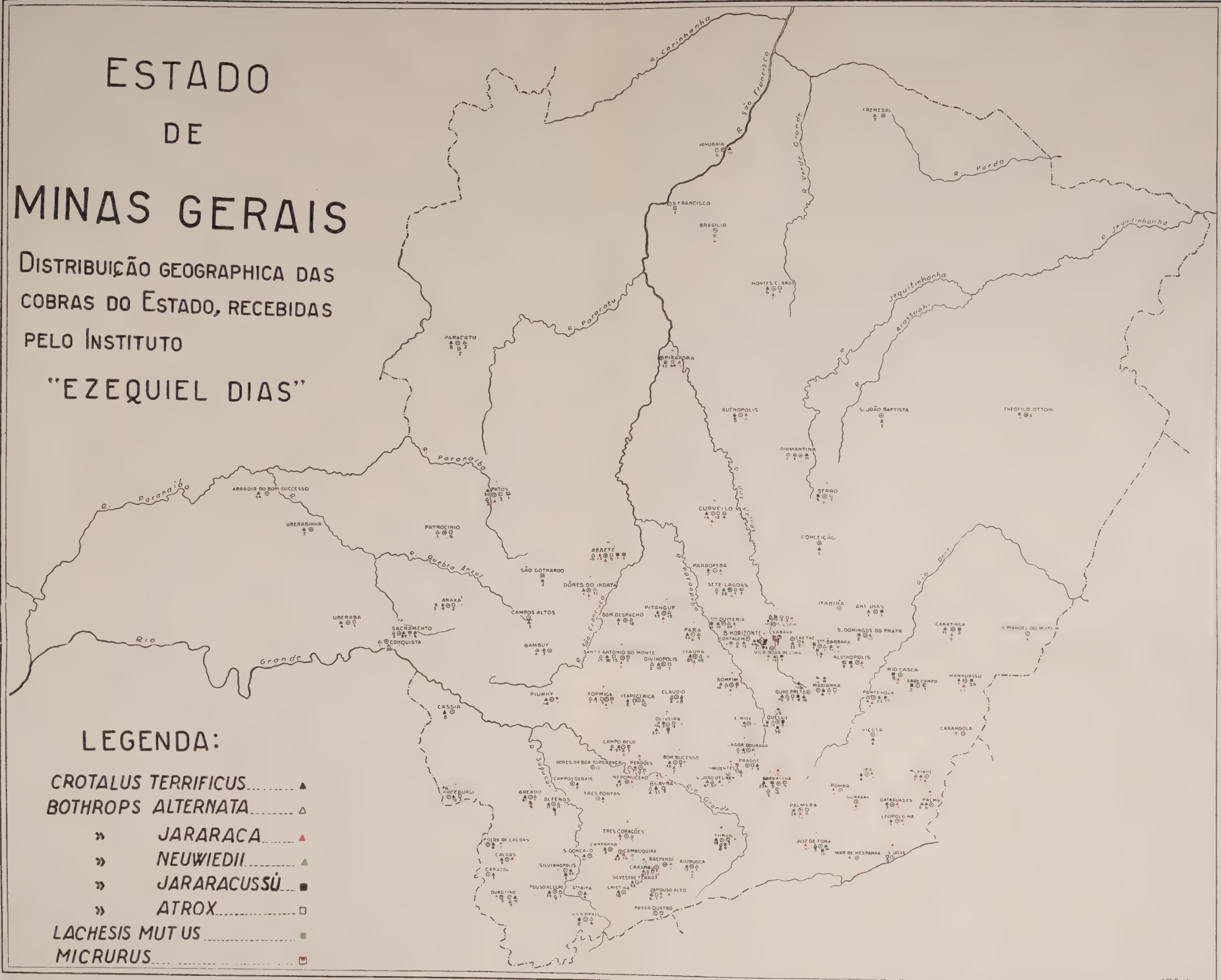
Nesta época os fazendeiros ainda viviam na era da pedra "Chifre de Veado", cozimentos e benzeduras...

Recebemos 18 observações de acidentes por picadas de ofídios peçonhentos, num total registrado em nossos arquivos, de 52 casos, dos quais 2 foram fatais, ou seja, 3,8% de mortes. Continuou o Pôsto em movimento, inclusive de trabalhos científicos realizados pelos Drs. Oswaldo de Melo Campos, Adolfo Lutz, Ezequiel Dias, Samuel Libâno e Marques Lisbôa e Octávio Magalhães, e iniciados os trabalhos exaustivos sôbre escorpionismo, em Minas e no Brasil, pelo signatário destas linhas, trabalhos que só terminaram pela profilaxia racional dos escorpiões, com o emprêgo de DDT e GAMMEXANE, solucionando, definitivamente, a profilaxia do escorpionismo que iniciamos, em 1944, em Belo Horizonte, (ob. cit.).

Havíamos notado uma certa mortandade de cobras que nos eram remetidas. Isto resultava de certas imperfeições no transporte e captura dos ofídios. No primeiro caso, estaria a demora dos senhores agentes das Estradas de Ferro, em despachar as caixas com cobras, apesar da intensa propaganda, órdens, pedidos, etc., que tínhamos feito e conseguido. No segundo caso, estariam os ferimentos, pelo terror-pânico que

ESTADO DE MINAS GERAIS

DISTRIBUIÇÃO GEOGRAPHICA DAS COBRAS DO ESTADO, RECEBIDAS PELO INSTITUTO "EZEQUIEL DIAS"



J M Barbosa

Serpentes do Instituto Biológico Ezequiel Dias — Lachesis mutus

Cabeça de Surucucutinga (Lachesis mutus)

ainda hoje inspiram aos criadores, as cobras no ato da captura. Assim, vejamos em 1923:

Cobras venenosas adultas, chegadas vivas	1.161
Cobras venenosas adultas, chegadas mortas	32
Cobras venenosas filhotes	52
Cobras não venenosas	415
Total	1.660

A Campanha antiofídica serviu também, êste ano, para viagens de estudos, e as fizemos em companhia do Prof. Carlos Chagas. Foi, por essa época, que identificamos a epizootia que devastava a boiada do Coronel A. Maciel, na cidade de Patos. Os bois, vindos do planalto goiano, tinham caminhado mais de 100 léguas, surpreendendo-os a aftosa, quase no fim da viagem. Os animais morriam súbitamente de miocardite aftósica, como foi comprovado pelas necrópsias que fizemos.

Foi nesta mesma viagem com Carlos Chagas, em 1923, que ficou bem apurada, ainda uma vez, a grande difusão da Tripanosomíase Americana, que tem hoje o seu nome e que faz daqueles rudes patrícios retardatários, verdadeiros farrapos humanos.

Nesse ano, o Pôsto Antiofídico distribuiu cêrca de 20.000 circulares, enviou 142 livros de Vital Brazil aos fazendeiros mais prestadíos. Ainda nesse ano, recebemos cêrca de 1.245 cobras venenosas e, além das já referidas em 1922, recebemos mais *Micrurus leminiscatus* e *Micrurus corallinus corallinus*.

Em 1923, tivemos 169 fornecedores novos que, com os antigos, nos enviaram o total acima referido, de cobras venenosas.

Extraímos êste ano, 84,200gr. de veneno total e mandamos para os fazendeiros, 937 tubos. Recebemos em resposta a 4.000 circulares sôbre acidentes, 150 dados e apuramos os seguintes resultados:

Foram tratados com sôro enviado pelo Instituto	327	
Faleceu	1	(0,3%)
Não tratados com sôro	358	
Faleceram	85	(23,7%)
Total de acidentes em animais	1956	
Não receberam sôro	1916	
Morreram	987	(51,5%)
Receberam sôro	40	
Morreu	1	(2,5%)

Se nós quiséssemos fazer um orçamento de Cr$ 200,00 o preço de cada bovino, o que seria muito baixo, pois naquela época os bezerros custavam Cr$ 50,00 ou Cr$ 60,00, teríamos prejuizo de cêrca de

* A percentagem de mortes era de 41% para os que não receberam sôro. Tivemos, porem, de expurgar algumas observações que nos pareçeram obscuras e juntar outras.

Cr$ 197.000,00, já não falando das perdas de vidas humanas, que não foram tratadas pelo sôro.

Recebemos, nessa época, 27 observações sôbre acidentes ofídicos, aumentando, assim, o nosso arquivo para 79.

O Instituto iniciou, neste ano, a tróca de ofídios nacionais por estrangeiros, para constituir o nosso museu, o mesmo acontecendo ao nosso mostruário.

Enviamos 12 espécies de ofídios e pseudo-ofídios, para o "American Museum of Natural History", assim distribuidas:

1) *Petolagnatus nebulatus.*
2) *Leptodeira annulata.*
3) *Micrurus lemniscatus.*
4) *Siphonops paulensis.*
5) *Amphisbaena fuliginosa alba.*
6) *Philodryas nattereri.*
7) *Pseudoboa cloelia.*
8) *Eunectes murinus.*
9) *Corallus cookii.*
10) *Ophiodes striatus.*
11) *Crotalus terrificus terrificus.*
12) *Bothrops alternata.*

Também enviamos ofídios venenosos para a Escola de Farmácia e Odontologia de Belo Horizonte e Pôsto de Ubá.

Como todo trabalho baseado no ideal para a melhoria das condições humanas, tivemos, em 1924, como depois mais tarde, em vários outros setores, barreiras, obstáculos que tornavam os nossos esforços verdadeiramente ingratos, inglórios, para não dizer improfícuos. Eis um pouco do que dissemos naquele Relatório ao Sr. Secretário da Agricultura do Estado de Minas: "O entusiasmo do nosso arremêsso, a fé em nossa cruzada para o nobre ideal de uma assistência proveitosa aos nossos patrícios dos campos, vão de encontro à montanha de gêlo da indiferença, da ignorância ou da maldade. Um dêsses obstáculos está no meio de transporte — agente demolidor, persistente e desesperado.

O Instituto tem lançado mão de todos os recursos, desde a "carta-pedido", até as "circulares" com as ordens da Diretoria; desde o "pedido verbal" até a "explicação persuasiva escrita". Tudo tem sido em vão!

Afirmou um dos encarregados do serviço de despacho que tal acontecia, porque "as caixas com cobras" nada rendiam para as Estradas! Para êsse funcionário, nada há que sobrepuje o interêsse material, monetário, imediato. Faço a justiça de supôr que a desculpa é local, é dedução do pobre funcionário e jamais da alta administração daquela Estrada.

Aliás, as "Circulares" que junto V. Excia. verá — são disso a prova provada".

Cangambá ou Jaritataca (Conepatus chilensis) — Devorando uma jararaca

Esta luta nos acompanhou durante quase todo o tempo da campanha e, só nos últimos anos, a compreenção parece ter chegado aos responsáveis por êstes fatos.

Neste ano foi feita uma estatística digna de figurar aqui, publicada já em trabalho do Prof. Oswaldo de Melo Campos, referente à freqüência de acidentes por espécies de cobras venenosas.

Em 87 acidentes, tivemos:

Crotalus terrificus terrificus	30
Bothrops jararaca	18
Bothrops jararacussú	13
Bothrops alternata	11
Bothrops neuwiedii	1
Bothrops atrox	1
Lachesis muta	2
Ignoradas	11

Colhemos, nêsse ano, 94,650gr. de venenos de várias espécies, sendo a maior porção do Crotalus terrificus terrificus: 37,760gr. e a menor, da Bothrops neuwiedii.

Em 1924/5, fizemos estatística tanto quanto possível aproximada, da freqüência que tinham, no Estado de Minas, os acidentes ofídicos. Calculamos em 5.000, dos quais, provàvelmente, 1.500 mortais. Em animais, foi apurada a média de 12.000 acidentes.

Lembramos, aqui, que Vital Brazil havia estimado em Cr$ 24.000.000,00 os prejuizos monetários, em homens e animais, pelas picadas de serpentes venenosas. Nossa estimativa não ficou muito longe dêste cálculo de Vital Brazil.

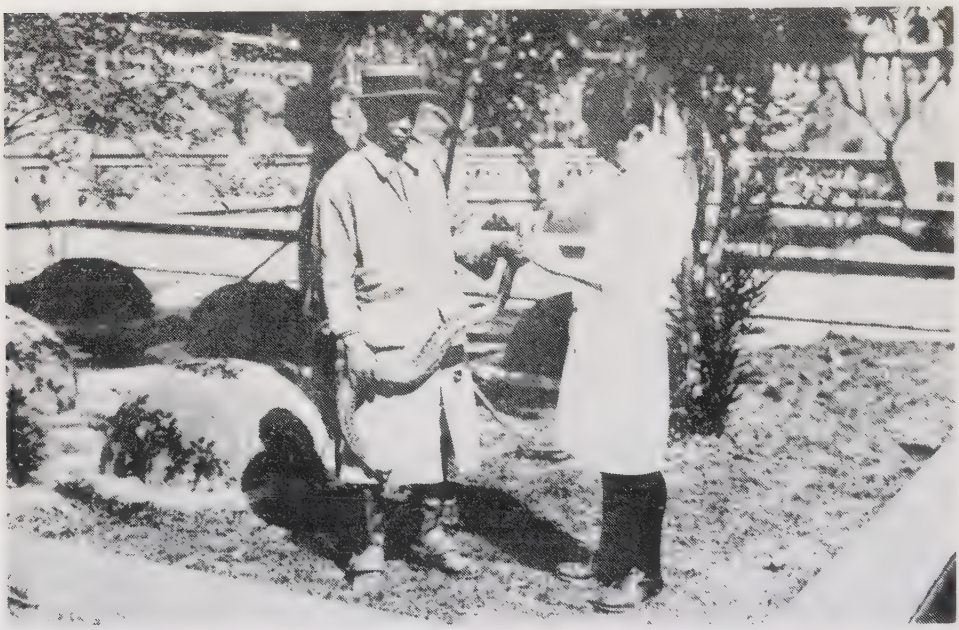
Fizemos, neste ano, uma exposição ao Sr. Secretário da Agricultura, sôbre estradas de rodagem que o Govêrno amparava naquela época — cêrca de 14 — pedindo para que enviasse uma circular mandando que o transporte de caixas para condução de cobras, fôsse, nessas estradas, gratúito, independente de requisição escrita, como já haviam feito os diretores de estradas de ferro, a quem nos dirigimos. Pedimos igual favor à Cia. de Navegação do São Francisco.

Queríamos, dessa maneira, conhecendo bem o nosso interior, facilitar aos fazendeiros ou pequenos sitiantes, a obtenção do sôro em tróca de ofídios e, também penetrar numa zona ainda pouco palmilhada — a zona do São Francisco.

Recebemos, nêsse ano, 1.562 cobras, sendo 1.117 venenosas, e 230 não venenosas. 162 eram filhotes e 53 chegaram mortas. Em troca, enviamos 929 tubos de sôro de diversas espécies. A diferença de sôro para as cobras, "deficit" de 188 tubos, prendia-se ao fato de que muitos fazendeiros tinham já um regular estoque de sôro e preferiam não receber imediatamente, a fim de que não envelhecesse, perdendo a sua eficácia. Durante muitos anos veremos se repetir o fato.

É interessante asinalar a freqüência com que certas espécies não venenosas são capturadas. Por exemplo a Xenodon merremii e a Philodryas shotti. Tivemos, também, belos exemplares de Mussurana — Pseudoboa cloelia.

Fizemos diversas excursões pelo interior do Estado, com finalidades várias, inclusive de mostrar ao fazendeiro o valor dos nossos serviços, o



Extração de veneno — B. Alternata — Assistente — E. Barros; Servente — N. de Oliveira

modo fácil de capturar ofídios e o valor do emprêgo do sôro na terapêutica dos acidentes. Era nossa intenção, nessa época, organizar um livro de ordem prática, cujo custo não fosse muito alto, para evitar a compra dos livros de Vital Brazil sôbre a matéria. Dêsse modo, poderíamos instruir, com trabalho próprio, os nossos fornecedores, premiando os mais capazes. Foi incumbido de executar êsse mistér, o Dr. Oswaldo de Mello Campos, grande conhecedor do assunto.

Colhemos e registramos mais 27 observações de acidentes ofídicos, que vieram confirmar, mais uma vez, o valor da soroterapia específica, de 8 casos, por exemplo, citados pelo Sr. Lamartine Loures, de Mirahy, que foram tratados com sôro, todos se salvaram e dos 4 tratados empíricamente, 2 morreram.

Publicamos, então, na Ciência Médica, III (4), 30 de abril de 1925, Rio de Janeiro, uma observação interessante de hemiplegia orgânica

* Ophis

provocada pelo veneno ofídico (ob. cit.). Nesse ano colhemos 67,945gr. de veneno, sendo que o mês de dezembro forneceu a maior percentagem: 10 gramas.

Em 1925, registramos a lista alfabética dos municípios de onde havíamos recebido cobras venenosas, em número de 123, e também o nome de todos os fornecedores de ofídios, dos novos fregueses, em número de 30., com o número de cobras que nos enviou cada um e o Município a que pertenciam, para a respectiva troca pelo sôro.

O que mais cobras nos forneceu nesse ano foi o Sr. Henrique Ribeiro de Castro, com 51 ofídios. Vinha material de tôdas as zonas do Estado, o que mostrava o poder de penetração da nossa propaganda. Vieram cobras de Ubá, Macáia, Januária, Pirapora, Campanha, Lasance, Ibiá, Alfenas, Caxambú, Buenópolis, Patos, S. Paulo de Muriaé Uberabinha, Silvinópolis, Quelus, Rio Casca, Tupaciguara, Turvo, Patrocínio, etc.

Em 1926, continuamos o nosso trabalho de propaganda para o combate ao ofidismo, tendo enviado cêrca de 6.000 circulares aos fazendeiros, presidentes de Câmaras Municipais, ao Clero, sendo que êste último foi o que atendeu, mais pronta e regularmente, ao nosso apêlo. Recebemos nesse ano, 1.622 serpentes, das quais 1.410 eram peçonhentas.

Cuidamos de estabelecer um viajante para que, pessoalmente, nas fazendas e granjas do interior do Estado, fizesse as demonstrações da necessidade do combate ao ofidismo. Por isso foram feitas, pelos técnicos do Pôsto, cêrca de 17 viagens ao municípios do Estado, aproveitando-se a ocasião para estudos correlatos que interessassem também ao Instituto Ezequiel Dias.

Colhemos nesse ano, 144,242gr. de veneno, sendo, de novembro a maio, 108,172gr.; de junho a outubro, 36,070gr.

Êsses resultados de diferença de colheita nos meses quentes e frios do ano, em animais em cativeiro, é muito significativo. Dir-se-ia que acontece aos ofídios o que vemos com os escorpiões: há uma semi-hibernação. Os animais se movem lentamente, segregam menos veneno, porque o seu metabolismo se acha diminuido. Isto coincide também com o recebimento das cobras venenosas ou não, no estudo que fizemos conparativamente, em 10 anos de observação. Foi assim que apuramos (vide gráficos juntos) que o número de acidentes, em média, de novembro a maio, foi de 14 por mês, de junho a outubro, de 2,8. O mesmo anotamos, se levarmos em conta a média do número de ofídios recebidos por mês, nos mesmos 10 anos de experiência. De novembro a maio, a média mensal foi de 1.413 e, de junho a outubro foi de 462 serpentes. Creio que êsses dados estatísticos dispensam comentários e expressam a verdade do que temos afirmado. Os ofídios, no mêses frios, movem-se pouco, saem pouco para a caça e, aparecendo menos, portanto, impedem a captura e rareiam os acidentes.

Êsses números englobam cobras venenosas e não venenosas. É preciso não esquecer, por outro lado, que, em cativeiro, as cobras permane-

cem meses sem qualquer espécie de alimentação e, se a extração do veneno é feita com cuidado, evitando-se inflamações locais, a colheita, de 15 em 15 dias é sempre proveitosa.

Fizemos várias experiências com produtos que se diziam "milagrosos", para a cura de acidentes ofídicos, como já havíamos feita, sem resultado, para a intoxicação pelo veneno dos escorpiões (vide Ensaios). A célebre pedra "Chifre de Veado" foi o primeiro dos preparados "milagrosos" que resolvemos empregar, havendo mesmo quem dissesse que era o maior "descobrimento do século"! Aliás, nunca deixamos de fazer a prova provada, em experiência cuidadosas, com d.m.m. certa, para o aferimento dessas drogas de tão miríficos resultados.

É necessário que se afirme que, alguns indivíduos, levados pela ignorância, empregaram mesmo fortunas em alguns dêsses produtos. Outros, não. Eram levados pela sêde de ganho e pela fama da glória. Aqueles levados pela sêde de pecúnia não se incomodavam com o sacrifício da vida alheia. E aí estava a tragédia dos fatos. Quantos perderam a vida, empregando o "Chifre de Veado" ou o amuleto "T. K.", confiantes na ação profilática ou curativa dêsses elementos? Veremos adiante que, às vêzes, êles eram vítimas do próprio embuste.

Eis as drogas que ensaiamos:

Surucuina	Pomada Vilaró	Cascavelina
Barbasco	Plus-ultra-antiviperino	Infalível
Vegetalina	Urutúina	Serpentina
Jararaquinha	Serpenticida	Esponja

Modo de aplicação da Pedra

Molha-se ligeiramente a região ofendida com leite ou com saliva da bôca e aplica-se a Pedra sôbre a picada da cobra, escurpião, etc., a qual, pela atração que exerce sôbre o veneno prende-se fortemente a epiderma. Logo que ela, depois de ter sugado todo o veneno inoculado, se desprenda da pele, deve ser posta, por 2 horas, em uma vasilha com leite que tem a propriedade de fazê-la expelir o veneno sugado e readquirir a sua propriedade anti-ophidica.

Feito isto e depois de bem seca ao sol ou ao fogo está a Pedra sempre nova para outras aplicações.

Em geral se a aplicação da Pedra foi feita logo após a mordedura, o que é de muita importância, uma hora depois o doente nada mais sente, devendo entretanto, ficar em repouso por algumas horas para evitar a inchação do membro que o exercício imediato costuma ocasionar.

Monte Carmelo — 1926.
ROMUALDO R. DE RESENDE

Esta bula veio acompanhada de longa carta explicativa, em a qual nos assegurava ter *salvo*, com a ""Pedra", muitas pessoas mordidas pelos ofídios peçanhentos.

Antiofídico (Baneira) — Antídoto de J. Mahomet
Anticoral — Preparado de Firmino Souza Silva

As experiências com êstes produtos mostraram que êles eram ineficazes para combater os acidentes ofídicos. Só uma coisa teve valor em nossas mãos: o sôro específico.

Começamos a preparar coleções de ofídios, com exemplares clássicos, para o Instituto Oswaldo Cruz, do Rio de Janeiro, a pedido do Diretor o ilustre e saudoso Prof. Carlos Chagas, fornecendo, igualmente, vários exemplares para o Prof. Adolpho Lutz e para a Escola Superior de Veterinária, de Belo Horizonte.

Nosso museu, com peças e exemplares raros e típicos, estava aumentando dia a dia.

Fazíamos, agora, nas preparações, a demonstração com os penis dos ofídios. Nas cobras do sexo masculino, isto nos orientava, também, na sistemática das mesmas.

Em 1927, o Pôsto Antiofídico recebeu 1.341 cobras venenosas e 211 não venenosas, num total de 1.552. Neste ano, oficiamos ao Sr. Secretário da Agricultura, quanto à lei n.º 535, de 30 de novembro de 1927, a qual vinha colher completamente o nosso trabalho. Dissemos então: "Já mostramos os prejuizos de Minas e do Brasil, pelas picadas de cobras. Esperamos um dia mostrar a provocada pelas picadas dos escorpiões. São milhares de contos que se esváem, sem apêlo, todos os anos, da economia brasileira, pela picada de cobras venenosas."

Êste ano, apesar dos impecilhos, distribuímos 900 tubos de sôro antipeçonhento, assim compreendidos:

Antiofídico — 300 tubos.
Antibotrópico — 300 tubos.
Anticrotálico — 300 tubos.

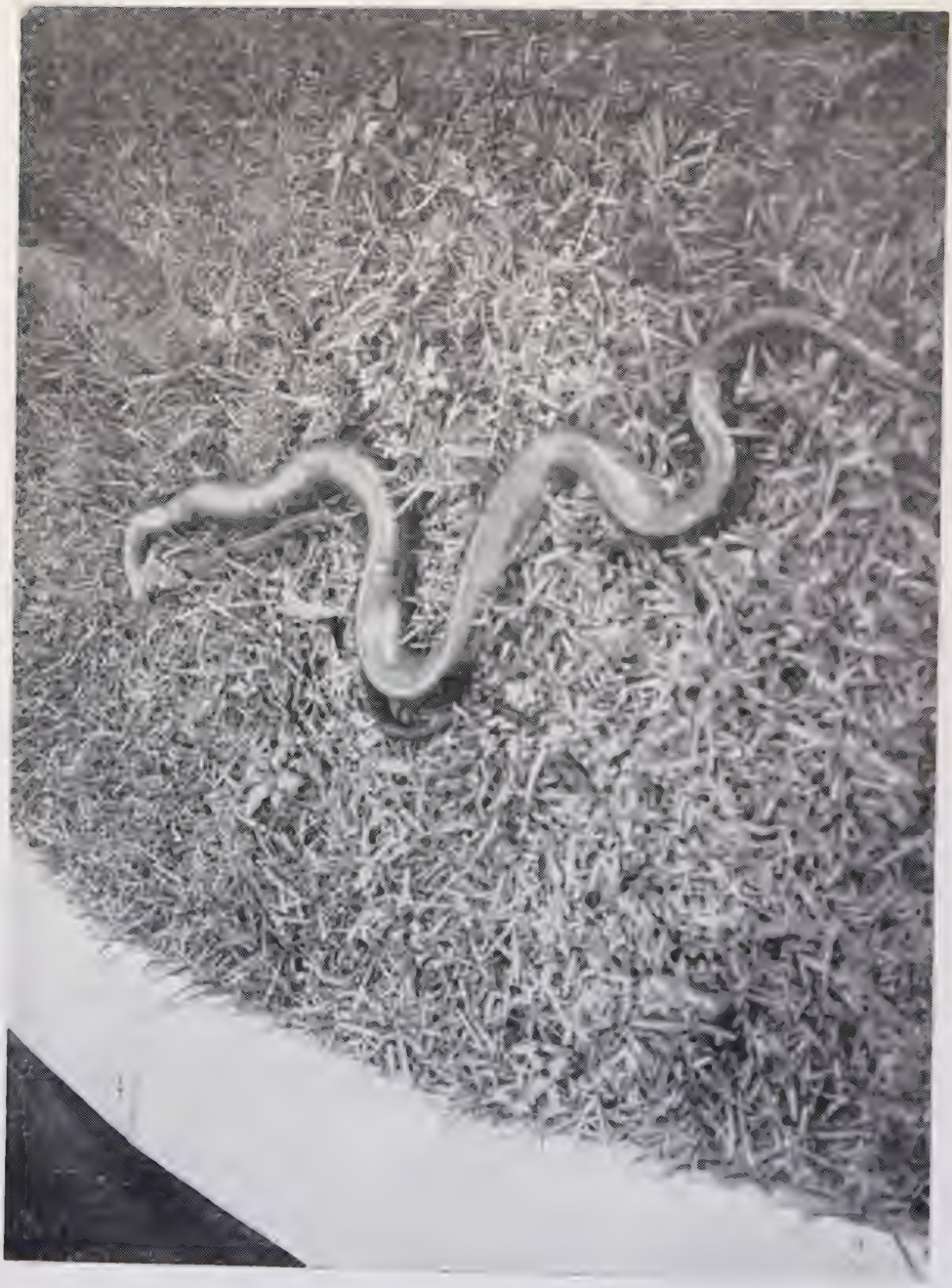
Havíamos recebido de Vital Brazil, em troca de venenos, 382 tubos.

Juntamos mais 19 observações de acidentes por picadas de cobras, num total, até aqui, de 125. Êsses acidentes foram provocados:

Micrurus frontalis	1	*B. alternata*	1
B. neuwiedii	1	*C. terrificus terrificus*	1
B. jararaca	3	*Philodryas olfersii*	1
B. jararacussú	6	*Ignoradas*	4

No dia 20 de abril dêsse ano, enviamos ao Dr. Carlos Chagas, Diretor do Instituto Oswaldo Cruz, as seguintes cobras:

Micrurus corallinus	1
Crotalus terrificus terrificus	3
B. neuwiedii	2
B. jararacussú	1
B. alternatus	2



Constrictor Constrictor Constrictor — Devorando uma D. bifossatus

B. atrox	1
B. jararaca	2
Constrictor constrictor constrictor	1
Epicatrix cenchria cenrhria	1
Drymobius bifossatus	2
Spilotes pullatus pullatus	1
Liophis poecilogyrus	1
Philodryas schottii	1
Erythrolamprus aesculapii	1

Como em todos os anos, organizamos um quadro demonstrativo do número de fornecedores, com registro de municípios, a espécie de ofídios remetidos e a respectiva quantidade, para a boa feitura da nossa conta-corrente com os fazendeiros.

O ano seguinte, 1928, foi de grande atividade. Terminamos e publicamos um relatório sôbre acidentes provocados pelas picadas de escorpiões, com o registro de 26 mortes. Era o primeiro inquérito realmente científico, feito no Brasil, sôbre o assunto. Por êle mostramos a importância do problema entre nós, principalmente em Minas e São Paulo. Demonstramos que o ofidismo não era o único problema de saúde pública no Brasil, no que respeita à intoxicação pelos animais peçonhentos. É preciso assinalar que a profilaxia dos escorpiões, que iniciamos em Belo Horizonte, pelo D.D.T. e GAMMEXANE, em 1944, deve ser aplicada em outras cidades do Centro para o Norte de Minas e mesmo em algumas cidades de São Paulo. É preciso assinalar que ainda se morre de escorpionismo no Brasil!

Fizemos, nesse ano, também um grande inquérito sôbre acidentes e mortes por picadas de cobras no Brasil. Enviamos, entre circulares e telegramas, 6.648 escritos para a colheita de dados que justificassem nossas estatísticas. Recebemos 1.412 ofídios, sendo 1.245 venenosos e 167 não peçonhentos. Colhemos 71,200gr. de veneno, sendo 22,510gr. crotálico e 48,690 botrópico.

Como sempre, a remessa de cobras foi menor no inverno e início da primavera. Já estudamos a interpretação do fenômeno, páginas atrás.

Recebemos, nesse ano, 1.150 tubos de diversos sôros de Vital Brazil. Distribuímos pelos fazendeiros, 1.064. Concorremos à Exposição Pecuária de 1928, em Belo Horizonte. Foi feita uma "Seção de Assistência Antiofídica", a qual foi muito visitada e comentada pelos jornais da Capital do Estado, publicando fotografias e dados sôbre o funcionamento da seção.

Enviamos alguns exemplares de ofídios e escorpiões para o estrangeiro, recebendo em troca, material variado, inclusive do Japão.

Em 1929, registramos mais observações sôbre acidentes ofídios. Recebemos 1.462 cobras venenosas, 157 não venenosas, colhendo êste ano 81,058gr. de veneno botrópico e crotálico, com 183 fornecedores antigos e 137 novos. Convém assinalar sempre, que, muitos fazendeiros, tendo

feito um grande estóque de sôro pelas cobras remetidas, desinteressavam-se da colheita de ofídios e passavam mêses e mesmo anos sem nos remeter serpentes, até que o sôro do depósito, ou se vencesse ou se esgotasse, para recomeçar a troca.

É preciso assinalar ainda, aqui, que muitos ofídios chegavam sem procedência exata, por culpa dos remetentes, impedindo, por êste modo, que saldassemos nossos débitos, ficando os remetentes sem os sôros respectivos e nada podendo acrescentar ao mapa que organizamos (vide mapa junto).

Para dar uma idéia dêsse fato, diremos que, em 1929, por exemplo, vieram 100 cobras venenosas adultas, sem a designação da procedência; nem mesmo o nome do remetente. Felizmente, êsse número foi compensado com 1.453, de procedência rigorosamente exata.

Nosso estóque de cobras de origem estrangeiras estava aumentando francamente, como se pode ver na lista adiante. Distribuímos, nesse ano, 700 tubos de sôro, sendo 200 antiofídico, 250 antibotrópico, 250 anticrotálico, aos fazendeiros, e também 3.000 circulares. Apesar disto, perdemos 11 municípios que deixaram de nos fornecer. É preciso assinalar que os municípios limítrofes com São Paulo e Rio de Janeiro, enviavam cobras para Butantan ou Instituto Vital Brasil, em Niterói.

O Norte de Minas, nesta época, pelas dificuldades de transportes, era ainda uma área pouco penetrada ou de difícil ascesso. Aliás, já dissemos que os tropeiros — únicos condutores em certas regiões — quando percebiam o chocalhar da cascavel, por exemplo, dificilmente conduziam as caixas no lombo dos equídeos. Êles achavam um perigo, mesmo com as caixas fechadas a parafuso!

O nosso esfôrço silencioso, porém, foi realmente eficaz e, de vez em quando, recebíamos uma palavra confortadora. Naquele ano, espontaneamente, o serviço de Estatística do Estado de Minas publicou, no Diário de Minas, o seguinte: "O Instituto Ezequiel Dias é um centro científico de alta importância, do qual, com justo motivo, bem pode se ufanar o Estado de Minas".

LISTA DAS ESPÉCIES DE OFÍDIOS BRASILEIROS, REPRESENTADAS NA COLEÇÃO DO INSTITUTO EZEQUIEL DIAS

É comum a mudança constante de nome e lugar, das espécies, em Zoologia. Conservamos, para muitas, a designação constante no nosso Museu. Alguns nomes estão com as modificações modernas. Outros, não. Conservam a designação com que vieram de outros países e mesmo constavam das peças do nosso Museu. Isto, aliás, não tira o valor da documentação do nosso trabalho. Em muitos nomes, ficamos com os técnicos de Zoologia do Museu Britânico. Nos Boletins, cujos exemplares temos arquivados, damos amostra em alguns de como se classifica-

vam, naquela época, as espécies encontradas em Minas Gerais. No mostruário, tínhamos:

Herpetodryas fuscus (L.), 1754
Herpetodryas carinatus (L.), 1766
Herpetodryas sexcarinara (Wagl), 1824
Drymobius bifossatus (Raddi), 1820
Drymobius brazili (Florencio), 1917
Liophis miliaris (L.), 1758
Liophis undulatus (Wied), 1825
Liophis poecilogyrus (Wied), 1825
Leimadophis typhlus (L.), 1758

Constrictor constrictor constrictor devorando uma D. bifossatus

Leimadophis almadensis (Wagl), 1824
Xenodon colubrinus (Guenthr.), 1858
Xenodon guentheri (Boul.), 1896
Xenodon merremii (Wagler), 1824
Xenodon neuwiedii (Guenthr.), 1836
Xenodon hemileucurus (Lutz-Mello), 1920

Spilotes pullatus pullatus (L.), 1758
Drymarchon corais corais (Boie), 1827
Paraphrynonax versicolor (Lutz-Mello), 1920
Simophis rhinostoma (Schleg), 1837
Simophis rohdei (Boettg), 1885
Aporophis lineatus (L.), 1758
Sibon sibon (L.), 1758
Leptodeira annulata annulata (L.), 1758
Thamnodynastes nattereri (Mikan), 1820
Oxyrhopus rhombifer (Dum. e Bibr.), 1854
Oxyrhopus trigeminus (Dum. e Bibr.), 1854
Pseudoboa cloelia (Daud.), 1803
Oxyrhopus rusticus (Cope), 1877
Oxyrhopus guerini (Dum. e Bibr.), 1854
Philodryas olfersii (Licht), 1823
Philodryas shottii (Schelg), 1837
Philodryas serra (Schleg), 1837
Philodryas nattereri (Stein), 1870
Rhinostoma bimaculata (Lutz-Mello), 1920
Tomodon dorsatus (Dum. e Bibr.), 1854
Pseudablabes agassizii (Jan.), 1863
Himantodes cenchoa (L.), 1766
Ptychophis flavorirgatus (Florencio, 1915)
Oxybelis acuminatus (Wied.), 1822
Erythrolamprus aesculapii (L.), 1758
Tantilla malanocephala (L.), 1758
Apostolepis assimilis (Reinh), 1861
Elapomorphus blumii (Schelg), 1837
Micrurus frontalis (Dum. e Bibr.), 1858
Micrurus corallinus (Wied.), 1820
Micrurus lemniscatus (L.), 1758
Micrurus ezequieli (Lutz-Mello), 1922
Crotalus terrificus terrificus (Laur.), 1768
Lachesis muta (L.), 1766
Bothrops jararaca (Wied), 1824
Bothrops neuwiedii (Wagl), 1824
Bothrops alternata (Dum. e Bibr.), 1854
Bothrops atrox (L.), 1758
Bothrops jararacussú (Lacerda), 1884
Bothrops cotiara (Florencio), 1913 (*)
Bothrops inaequalis (Magalhães), 1922
Constrictor constrictor constrictor (L.), 1758
Eunectes murinus (L.), 1758
Epicrates cenchria (L.), 1758
Corallus cookii (Boul.), 1893

(*) Recebemos, nos últimos anos, do Sul de Minas Gerais, um exemplar de *Bothrops cotiara*.

Muçurana Pseudoboa (Oxyrhopus) cloelia — *Albinismo*

Recebemos os seguintes exemplares de cobras e lacertídios, originários da Alemanha, França, Congo-Belga, Índia, Tonkin, América Setentrional, Antilhas, Nicaragua, Itália e diversas peças para o Museu:

Agkistrodon blomhoffi
Lachesis Wagleri
Naja tripudians (**)
Bungarus fasciatus (**)
Vipera aspis (**)
Coronella leavis (austríaca) (**)
Dendraspis jamesonii
Bitis gabonica
Naia melanoleuca
Calamaria rhenhardti
Lophius sp.?
Anilius scytale
Bothrops schlegelii
Bothrops lanceolatus
Ophisaurus apus (Pallas)
Tropidonotus natrix (Wagl)
Tropidonotus tesgellatus (Laut.)
Zamenis gemonensis (Wagl)
Coluber longispimus (Laut)
Vipera berus (Linn.)
Coelopeltis monspessulana (Herm.)
Anguis fragilis (Linn.)
Lacerta viridis (Laut.)
Lacerta muralis (Laut.)
Congylus ocellatus
Trimeresurus gramineus
Trimeresurus mucrosquammatus
Agkistrodon acutus
Sarcoma de Fujinami (galinha)
Bungarus multicinctus (**)
Metagonimus yokogawai
Peixes venenosos (5)
Paragonimus westermanii
Schistosoma japonicum
Clonorchis sinensis
Oncotomelania nosophora (Kotayma nosophora)
Bithynia striatula var. *japonica*
Melania libertina
Pseudorasbora parva
Ophiodes striatus (Spix)
Potamon dehaanii
Naja haje

(**) Mais de 1 exemplar.

Enviamos para o estrangeiro o seguinte: Para o Museu da Universidade de Michigan, EE. UU., 18 cobras conservadas em álcool:

2 *Crotalus terrificus terrificus*
2 *Bothrops jararaca*
2 *Bothrops alternata*
2 *Bothrops atrox*
2 *Bothrops neuwiedii*
1 *Bothrops jararacussú*
1 *Micrurus frontalis*
6 não venenosas

Neste ano, vítima da própria intrujice, morria T. H. K.. A mentira, tantas vêzes repetida, entra, não raro, no consciente de muitos mitômanos e adquire, para êles, fôros de verdade. É possível que T. H. K. tenha mesmo se convencido do poder curativo do amuleto. Segundo informações que tivemos de alemães recém-chegados da zona, o célebre amuleto de níquel, que impedia que os ofídios picassem os homens, foi a sua própria desgraça. Quando fazia uma dessas demonstrações a que nos referimos no livro "Ensaios", ou porque o animal não tivesse sido convenientemente anestesiado ou por uma causa que nos escapa, T. H. K. foi picado por um cascavel, a ser retirado êste do saco e, como lá não houvesse sôro e o veneno do cascavel é profundamente neurotrópico, êle morreu em pouco tempo, vítima do ofidismo... e de sí próprio! É pena; mas que isto sirva de exemplo aos futuros intrujões.

Continuamos a receber pedidos de exemplares de ofídios, em troca de outros, estrangeiros. Naquele ano, tivemos uma mésse de 28 trabalhos, feitos pelos técnicos da Casa, sôbre os mais variados assuntos. As viagens de estudos continuavam. A pobreza em a qual vivíamos não nos impedia de pesquisas em problemas que a todo momento se apresentavam.

Em 1930, registramos mais 15 observações pelas picadas de ofídios, perfazendo um total de 140. Neste ano, aumentamos as peças vivas do museu que estávamos lentamente organizando em armários de vidro, de modo a poderem ser observadas, classificando por famílias e por espécies os ofídios mortos e bem conservados, bem como peças anatômicas produzidas pelo envenenamento das serpentes e dos escorpiões. Não é um problema fácil, ainda hoje, a conservação das peças com a côr natural, nos museus de todo o mundo. Para isso, Evandro de Barros tinha estabelecido um plano de trabalho, tendo já conseguido alguns dados, interessantes mas inéditos, que constituiriam, mais tarde, um trabalho de alto valor daquele pesquisador. Os mostruários eram caríssimos, pois tinham, para melhor visão, paredes inteiras de vidro, que não se encontravam em Minas Gerais.

Foram estas peças das observações de acidentes por ofídios, que, em 1925, serviram de base para o trabalho dos mais interessantes do Prof. Oswaldo de Mello Campos (ob. cit.) Desde a sua fundação,

até 1930, o Pôsto distribuiu 10.168 tubos de sôro dos mais diversos. Pergunto: quantas vidas de homens e animais foram salvas por êste sôro? Recebemos, neste ano, 1.743 cobras, sendo 1.439 peçonhentas e 304 não venenosas. Dêstes 1.743, tinham procedência exata 1.622, e fácil nos foi pagar esta dívida.

Colhemos neste ano, 54,350gr. de veneno, sendo 19,060gr. crotálico e 35,290gr. botrópico. Em tróca, recebemos do Instituto Vital Brazil, 1.450 tubos de sôro, tendo distribuído 962 aos fazendeiros e 100 tubos ao Estado.

Os fazendeiros que nos forneceram, 136 eram novos e 173 antigos. Nesse ano, ficaram sem classificar, 41 espécies de cobras não venenosas, das quais apenas 17 eram adultas.

Foi essa impossibilidade de bem classificar tôdas as espécies de cobras não venenosas recebidas, e com isso se perdia um grande e precioso material de zoologia, que nos fêz cuidar de conseguir um especialista em herpetologia de um dos grandes museu do mundo. Nesse ano, justamente, recebemos a dádiva preciosa de J. Chalmets, Diretor da Cia. Morro Velho. Era uma coleção de ofídios, escorpiões, etc., pacientes e superiormente reunida em 40 anos de vida no Brasil, pelo seu pai, antigo Diretor da Cia. Morro Velho (Vide fotografia nos "Ensaios").

Veio, então, a revolução de 30. Ela não nos surpreendeu, mas a situação do Instituto Ezequiel Dias, no percurso das balas que visavam o Palácio da Liberdade, fêz com que fôssemos vítimas dos projéteis do 12.º R. I. e mesmo da Polícia, quebrando os nossos mostruários, de tão rico material, o que nos obrigou a fazer trinceiras de sacos de farelo dentro do prédio, para evitar a destruição total dos mesmos. Os funcionários do Pôsto foram dispensados, como os do Instituto, mas nem um só dia deixamos de dar comida, água, distribuir tubos de vacina requisitados pelo govêrno, tudo a tempo e à hora. Se outros esquecem, nós não nos deslembramos dêsse episódio.

28 municípios novos começaram a nos atender e 21 não responderam ao nosso apêlo. É claro que a revolução de 30 fêz paralisar, durante algum tempo, a nossa tróca de ofídios por sôros, a chegada de caixas, etc. e, mesmo depois de vencida a revolução, as coisas custaram a entrar nos eixos. Recebemos, de Ressaquinha, um cascavel (monstro opódimo).

Em 1931, o Pôsto recebeu 3.223 cobras, sendo 2.835 venenosas e 388 não venenosas, 198 não tinham procedência exata. Se somássemos tôdas as cobras recebidas desde 1918, teríamos que o Pôsto havia recebido 22.181 ofídios. A colheita de veneno foi muito proveitosa, pois obtivemos 144,242gr., entre veneno crotálico e botrópico. A colheita não é fácil, não apenas pelos perigos que acarreta à gente que trabalha, pedindo máxima atenção e cuidado, senão que também pela necessidade de uma boa colheita de peçonha, que só a prática nos ensina. Esta pede uma boa "pega" na cabeça da cobra, uma pressão sôbre as glândulas venenosas, nem muito forte nem muito fraca, evitando-se os traumatismos e

as inflamações locais, que dificultam futura colheita. Nós nos dispensamos de alimentar forçadamente as serpentes venenosas, após a colheita, porque, sendo os venenos elementos digestivos, a sua falta acarreta várias perturbações no animal e mesmo a morte precocemente.

A genética moderna tem procurado mostrar como se deve ter cuidado com a afirmação de "espécies". Esta constante mutação de sêres vivos explica o fundo da questão. Sempre preferi juntar a morfologia pura à fisiologia das espécies. Haja vista o que fiz com as espécies de Tityus, quando tratei da matéria.

Desejamos, aqui, corrigir um engano que parece se repetir, porque a leitura dos originais nem sempre é perfeita ou possível. Em 1922, descrevemos no Rio Grande do Sul, com o beneplácito de Vital Brazil e Adolpho Lutz, a chamada *Lachesis inaequalis*. Esta espécie foi posta em sinonímia por A. Amaral, em 10 linhas no "Contrib. Harvard Inst. Trop. Biol. Med., II: 55, 1925".

Como é meu hábito, quando pode haver dúvida sôbre trabalho meu, entreguei o assunto ao saudoso e honesto pesquisador que era Evandro de Barros (ob. cit.). Êle publicou um trabalho exaustivo sôbre a matéria, provando que eu não me havia firmado apenas em questões de desenho, para criar a espécie, senão que em diferenças morfológicas acentuadas. Tinha, para comparação, 2.994 exemplares de Bothrops alternata e não menor quantidade de Bothrops neuwiedii, para sustentar a validade daquela espécie. Aliás, quero assinalar que nenhum zoólogo, moderno e mesmo antigo, desprezava ou despreza o desenho como auxiliar da sistemática, inclusive o Sr. A. Amaral.

No trabalho de Evandro de Barros, além de elemento tabular para o estudo comparativo, há, também, a publicação de fotografias, para comparação dos quatro tipos de Bothrops mais próximos. Recomendo àqueles que se interessarem pelo assunto, que leiam, não o meu trabalho, mas o trabalho de Evandro de Barros.

Em nenhum daqueles milhares de Bothrops, alternata ou neuwiedii, pude jamais encontrar exemplar semelhante, morfológicamente, àquele que descrevi no Rio Grande do Sul.

Para tirar ainda qualquer dúvida a êste respeito, enviei o meu trabalho a Mr. Calman, do British Museum, e recebi, em seu nome, uma carta que tenho em meu poder, do Sr. H. W. Parker, do departamento de Zoologia (Répteis), daquele museu. Transcrevo, apenas, um trecho daquela carta, para que, aquêles que se interessam pelo problema, possam fazer um juizo mais acertado.

Eis o que disse, em seu magistral trabalho, o Dr. Evandro de Barros, sôbre a B. inaequalis: "A comparação feita linhas abaixo, evidência a sociedade, o quanto de razão escasseia a A. Amaral."

H. W. Parker, assim se manifestou: "*L. neuwiedii* is a species which is very prone to break up into local races, and I have in press a description of a new species which, like your *L. inaequalis*, is closely

allied to *neuwiedii*. Until intermediates are forthcoming which prove definitely to connect the two, there is no alternative but to regard each as a distinct species..."

COBRAS QUE CHEGARAM DURANTE O ANO DE 1930:

Venenosas:		1 439
Não venenosas:		304
Total:		1 743
Com procedência exata:	— Venenosas	1.385
	— Não venenosas	237
	Total	1.622
Sem procedência exata:	— Venenosas	54
	— Não venenosas	67
	Total	121

ESPECIFICADAS:

C. terrificus terrificus	578
B. jararaca	539
B. neuwiedii	150
B. alternata	104
B. jararacussú	41
B. atrox	8
M. frontalis	17
M. lemniscatus	1
Não venenosas	305
Total	1 743

	Com a procedência exata:	*Sem a procedência exata:*
C. terrificus terrificus	554	23
B. jararaca	522	17
B. neuwiedii	147	3
B. alternatus	96	8
B. jararacussú	40	1
B. atrox	8	0
M. frontalis	17	0
M. lemniscatus	1	1
M. corallinus corallinus	1	0
Não venenosas	304	0

Havia um problema que muito nos interessava: era a mortandade do ofídios em cativeiro. Os "cupins" do serpentário eram de cimento, muito quentes no verão e muito frios no inverno. A sombra que se obtinha com os arbustos plantados dentro do serpentário era pequena, por-

que tinha-se que evitar um crescimento maior das plantas, para impedir que nelas se aninhassem as serpentes, caindo, muitas vêzes, fóra da área do serpentário.

O ideal — e nisso já havíamos atentado — seria, após a colheita, levar as cobras para uma fazenda apropriada, a fim de que, nas condições naturais, elas se restabelecessem rápidamente. Já tínhamos em vista êste sítio, próximo a Belo Horizonte, que serviria tanto às cobras como aos escorpiões.

Estávamos com 375 fornecedores de serpentes, sendo 207 antigos e 168 novos. Nesse ano não pudemos classificar 34 ofídios não venenosos. Apuramos 25 observações de acidentes, somando o total, até esta data, 165 observações.

Tínhamos feito o propósito de, melhorando a carpintaria e o expediente da seção, recambiar, em 24 horas, no máximo, após a chegada ao Instituto, as caixas para condução das cobras, bem como remeter, no máximo 48 horas depois, o sôro que era devido.

Foram remetidas, nêste ano, 2.243 caixas de madeira, tendo necessidade, pela insuficiência da nossa carpintaria, no momento, de mandar executar fóra do Instituto, 1.000 caixas, o que custou uma elevada verba ao Pôsto Antiofídico.

Nesse ano recebemos 5 Lachesis mutus (saracutinga), sendo 2 de Rio Casca e 1 de Cachoeirinha. Vital Brazil nos enviou 2.110 tubos de sôros diversos, tendo nós distribuído 1.724, sendo 608 antiofídicos, 636 antibotrópicos e 480 anticrotálicos.

Apuramos que a nossa propaganda havia beneficiado grandemente o Estado, nesse período de 11 anos, pois 151 dos 225 municípios mineiros entraram em relação com o Pôsto. Restavam, pois, 74 municípios, que procuramos trabalhar pela catequése.

Nesse ano ainda, foi organizada pelo Dr. Evandro de Barros, uma lista completa, com colunas por município, estação de estrada de ferro ou estrada de rodagem, nome do fornecedor, de 481 localidades, das quais apenas 45 ficaram com dados incompletos. Isso tudo facilitaria muito a nossa tróca de correspondência e a vinda das cobras.

O gráfico, que adiante daremos, mostra a relação que havia entre a colheita bem feita do veneno e a chegada das cobras ao Pôsto Antiofídico. Outro gráfico junto mostra que, em Minas e, talvez em todo o Brasil, domina o gênero Bothrops e não, como pensávamos a princípio, o gênero Crotalus.

O ano de 1932 foi realmente proveitoso para nossos serviços. Não só o Pôsto Antiofídico, senão que, o Instituto Ezequiel Dias, progrediu em tôdas as direções e terrenos. Êle viria, e com que prazer o reafirmo aqui, poder viver quase que exclusivamente à própria custa, isto é, pela venda de seus produtos. O pesquisador não sacrificou o administrador. Esta é a resposta que podemos dar às insinuações malsãs dos eternos detratores de tôdas as obras realmente úteis no Brasil.

As palavras naquela época, de VITAL BRAZIL, o realmente eminente, saudoso e íntegro Mineiro da Campanha, que nos visitou, foi um refrigério para o nosso cansaço das lutas em que estávamos empenhados: "... O Instituto Ezequiel Dias... Antes de o inquirir diretamente sôbre o assunto, pedimos-lhe que nos desse sua impressão sôbre o nosso Instituto "Ezequiel Dias".

— Visitei-o hoje pela manhã e devo dizer que trouxe a melhor das impressões. Apenas...

— Há sempre um "mas".

— Apenas, como ia dizendo, acho que é pequeno seu âmbito. Eu não sei como podem seus abnegados diretores e funcionários, trabalhar em tão curto terreno. A obra que o Instituto realiza é formidável, digna de admiração. Está bem instalado, mas não há espaço suficiente para que os serviços sejam feitos desafogadamente. Tudo é apertado, tudo se faz num ambiente estreito e acanhado, ocasionando maiores trabalhos e maiores canseiras. Isto, no que se refere ao local, porque, no mais, tudo é irrepreensível. Serviços executados, corpo técnico, direção, instalações e demais trabalhos. É lamentável, como disse, que o Instituto lute com tanta falta de espaço, que lhe dificulta o trabalho que vem realizando. E, por isso mesmo, mais digna de louvores é essa obra patriótica, a que tanto Minas deve." (Estado de Minas, 21 de fevereiro de 1934).

Veremos que não havia "deficit" na nossa conta corrente com os fazendeiros. Foi uma grande vitória. Registramos, durante o ano, 202 observações de acidentes por picadas de escorpiões e 32 observações de acidentes ofídicos. Recebemos 4.346 cobras, sendo 3.953 venenosas e 393 não venenosas. Colhemos 209,389gr. de veneno. As observações de ofidismo somavam, agora, 197.

Em 1933, no Relatório apresentado ao Secretário da Agricultura, dissemos textualmente: "O Instituto Ezequiel Dias continúa progredindo. De todos os lados há, para pesquisa científica, para o terreno das lides intelectuais, óbices formidáveis. Vamos vencendo, lentamente, é certo, mas segura e desassombradamente, todos os obstáculos, realizando em Minas, embora pàlidamente, um pouco daquilo que o Mestre realizou em Manguinhos."

Nesse ano recebemos 5.980 cobras, sendo 426 não venenosas, deixando de classificar 43 espécies recebidas. Das venenosas, o maior número era de Bothrops jararaca, com 3.095 exemplares e, depois, de Crotalus terrificus com 1.612 exemplares. Em 15 anos, aumentamos quase 18 vêzes o número de ofídios recebidos. Colhemos 277,206gr. de veneno e distribuímos aos fazendeiros e sitiantes, em tróca de cobras adultas, vivas, 4.644 tubos de sôros diversos antipeçonhentos. Recebemos de VITAL BRAZIL, 6.100 tubos. Em 15 anos, gratúitamente, para a profilaxia racional do ofidismo, cedemos aos fazendeiros e sitiantes cêrca de 19.019 tubos de sôro, num total, naquela época, avaliado em cêrca de Cr$ 300.000,00!

Tivemos em 1933, um intenso movimento de caixas (5.149), fazendo 4.702 requisições e um movimento global de papéis de 27.459. Recebemos 5 novos exemplares de Lachesis mutus, vindos, 2 exemplares de Cachoeirinha, 2 de Ponte Nova e 1 de Rio Casca, ficando assim, definitivamente afastada a hipótese de que em Minas Gerais não havia Lachesis mutus. Registraram-se mais 34 observações de acidentes ofídicos, perfazendo, até aqui, o total de 231 casos registrados.

Nossa campanha continuou ainda lutando contra as incompreensões do meio. Foram dificuldades nas emprêsas de transportes, nos Correios, ora retendo a correspondência, ora se perdendo a mesma, ora exigindo formalidades que a urgência de certos servicos, certamente, não comportaria. Sôbre todos, porém, veio a denúncia do nosso contrato com o Instituto Vital Brasil, de Niterói, que nos comunicou haver se esgotado o estóque de sôro e que, só 2 mêses após, poderia fornecê-lo novamente. Apesar de irmos pessoalmente, e lá também estar o Dr. Amilcar Viana Martins, pouco conseguimos. Foi então que, assoberbado pelo acidente, vimos seria mais econômico e certo fazer o Instituto os sôros, e foi o que, mais tarde, o Pôsto realizou, com a ajuda dos técnicos da seção.

Estávamos com um "deficit" orçado em 5.000 tubos, devidos aos fazendeiros e sitiantes, pelas cobras remetidas.

Em marcha, também, felizmente, a nova organização do Instituto Biológico, com amplas e modernas acomodações.

Durante o ano arquivamos numerosas observações de acidentes por picadas de escorpiões e cobras e tôdas elas vieram confirmar, ainda uma vez, o valor da soroterapia específica.

Nosso Instituto estava em condições excepcionais para estas verificações e confirmação daquilo que o mundo inteiro já vem afirmando: o êrro do juizo precipitado é a demonstração de que é preciso nos aprofundarmos, para resolver, integralmente, o problema da biologia e, principalmente, de fisiopatologia. É claro que ninguém póde pedir milagres à soroterapia específica, mas os resultados com os sôros realmente multivalentes, empregados em tempo e quantidade úteis, dão um resultado realmente confortador em comparação com aquêles acidentes que não recebem sôro.

Em 1934, recebemos 6.437 cobras, contra 5.980 do ano anterior. Do número de cobras de 1934. 622 não eram venenosas. Ao todo, de 1918 a 1934, passaram pelas nossas mãos, ou dos técnicos do Instituto Ezequiel Dias, 38.944 ofídios. Constantemente recebíamos tubos de sôros devolvidos, ora porque continham depósito, ora porque estavam vencidos e eram velhos. Nesta última questão, trabalhos recentes mostraram que o sôro realmente multivalente, poucas vêzes perde totalmente o seu valor terapêutico pela idade, salvo quando esta é bastante avançada.

Colhemos neste ano ano, 309,514 gr. de veneno e enviamos ao Instituto Vital Brazil, 159,772 gr., deixando ficar na Casa o restante para o início do preparo do estóque, a fim de fazermos o sôro específico. En-

viamos aos fazendeiros 4.788 tubos de sôro, equivalente, na época, a Cr$ 71.520,00. Poderíamos ter progredido mais, porém o nosso contrato com o Instituto Vital Brasil obrigáva-nos a esperar o sôro, para iniciar as trócas pelos ofídios e, portanto, a intensificação da propaganda.

Com a chegada de exemplares de Lachesis mutus, perfazíamos um total de 19 cobras dessa espécie rara de ofídios das florestas brasileiras. É uma das raras cobras, que, realmente, atacam o homem, tornando-se excitadíssimas ao se acender, à noite, um facho de fogo próximo à gaiola. Vive muito tempo no cativeiro, sem qualquer espécie de alimento. Um dêsses exemplares permaneceu 10 meses e 9 dias em gaiola especial, fornecendo, constantemente, apesar de tudo, abundante veneno.

Mandamos construir, por essa época, um mostruário especial para êsses exemplares, pois era nosso intuito reestudar a espécie, à luz de vários exemplares. Das 6.025 cobras venenosas que recebemos, vivas e adultas, foi a seguinte a distribuição:

Crotalus terrificus terrificus	1.760
Bothrops jararaca	3.384
Bothrops alternata	287
Bothrops neuwiedii	421
Bothrops jararacussú	97
Bothrops atrox	35
Micrurus frontalis	26
Micrurus corallinus corallinus	6
Lachesis muta	9
Mortas ou filhotes	201

Fornecemos ao Ginásio Mineiro uma coleção dos principais ofídios venenosos do Estado de Minas, e colhemos 16 observações de acidentes por picadas de cobras, que perfaziam, nesta data, 247 casos registrados.

Em 1935, o "Minas Gerais" publicava na página 3 (dia 9 de agôsto), o seguinte despacho do Sr. Secretário da Agricultura: "O Diretor do Instituto Ezequiel Dias. Apresentando Relatório. Aprovo o Relatório. Quanto ao alvitre sugerido nos pareceres de fls. 38, a Secretaria, tendo em vista os relevantes (o grifo é nosso) serviços prestados pelo Instituto, verificará a possibilidade de melhorar as subvenções, quando elaborar a proposta orçamentária para 1936."

Era o reconhecimento de que trabalhavamos para o Estado de Minas e para o Brasil, com zêlo e eficiência. Aliás, já nos Ensaios transcrevi numerosos documentos semelhantes a êste, para provar que não foi realmente justo o tratamento que, mais tarde, sofreria aquela Casa de ciência.

Pelo decreto de 2 de janeiro, o govêrno federal passou o Instituto Ezequiel Dias para o Estado. Era a primeira etapa do grande plano que havíamos idealizado: a criação do grande Instituto Biológico Ezequiel Dias!

Nossa luta não terminou nesta primeira fase. O Relatório ao Secretário da Agricultura mostrou os numerosos trabalhos realizados, para o esclarecimento de numerosos problemas de Patologia regional, equacionados pelo Instituto. Disse, em resumo, nesse Relatório, o seguinte: "Estado sem alarde, sem a grita pela Imprensa leiga, sem o ronco tão em moda dos tambores dos reclamos, em 28 anos de trabalho e de lutas, cuja extensão e intensidade só nós e Deus sabemos, numa casa sem confôrto, sem espaço, onde durante anos e anos, um técnico levou ganhando 300 cruzeiros mensais. Foi uma hora, esta, decisiva para a vida do Instituto".

Quem sabe se não tinha razão o meu saudoso e sábio Mestre, o Prof. Carlos Chagas? Quem sabe se não fui, realmente, um sonhador incompreendido? Não importa. Se tivesse de recomeçar minha vida, procederia do mesmo modo. Que importa os homens, se os ideais são grandes e elevados?

Em 1935, recebemos 7.301 cobras, sendo que, destas, 360 eram peçonhentas. Foi, de tôdas as épocas, a maior soma obtida de ofídios capturados. Devemos êste fato à nossa propaganda e a rápida organização do serviço de remessa de sôro. Em 18 anos, havíamos recebido 46.245 cobras! Era um número considerável. Foi nesse Relatório que assinalamos a possibilidade de termos uma Fazenda para engorda de cobras e escorpiões, no intervalo da extração do respectivo veneno e, ao mesmo tempo, serviriamo-nos de um outro tipo de Fazenda, para criação de animais, engorda de cavalos e experiências com vacinas e sôros.

Extraímos 255,510 gr. de veneno, reservando uma parte para o preparo do sôro. Enviamos 3.027 caixas aos fazendeiros e o maior número de cobras recebidas, dêstes, foi de Bothrops jararaca (4.399) contra o Crotalus terrificus terrificus (1.597). O menor número foi de Micrurus corallinus corallinus (5).

Em maio dêste ano, enviamos ao Colégio Isabela Hendrix, 11 exemplares de ofídios (não venenosos 4) e venenosos (7). Fizemos doação ao Ginásio Afonso Arinos, de 12 exemplares típicos para o seu museu. Enviamos, ainda, exemplares semelhantes para ginásios do Rio de Janeiro, para a cadeira de Higiene da Faculdade de Medicina de Belo Horizonte e outra coleção para o Museu da Escola Normal da Capital mineira.

Todos os exemplares eram colocados em vasos apropriados, com rótulo a Nankin, os vidros rigorosamente fechados e os animais embebidos em formol a 10% ou álcool comum.

Assinalamos, então, um fato interessante, de numerosas jararacas subirem nos arbustos que sombreavam o interior do serpentário. A tal ponto êste fato se registrou, que os encarregados do serviço tinham o cuidado de retirá-las do galhos das árvores, para evitar picadas na cabeça, rosto ou pescoço.

Como vemos, estas jararacas não têm uma propriedade característica, nem póde isto servir de base para qualquer especificação, uma vez que é um caráter fisiológico geral.

Quando recolhemos ao serpentário comum uma Boidae de enormes proporções, ela mergulhou na água e desapareceu. 14 dias mais tarde, foi encontrada no fôrro do nosso laboratório, devorando uma pomba. Deve ter subido pelo cano externo de descarga da calha, que era muito grosso e rugoso. Daí por diante, as cobras de certo porte, principalmente a Lachesis mutus, eram recolhidas em gaiolas especiais para evitar acidentes mais graves.

Recebemos ainda a pele de uma Boidae, que tinha 5 metros de comprimentos por 50cm de largura. Colhemos 255,516 gr. de vários tipos de peçonhas e 23 observações de acidentes ofídicos, num total até aqui de 270 acidentes.

1936 foi o ano do Instituto Biológico Ezequiel Dias. Seja como for, foi realmente um acontecimento notável na administração superior do Estado de Minas Gerais. Dissemos, então, ao Secretário da Educação do Estado de Minas, no Relatório que enviamos: "Engana-se redondamente quem supõe que a ciência verdadeira póde ser feita, apenas, com casas grandes e técnicos improvisados. Na mesma ilusão estará aquêle que olhar com pouco caso para a obra silenciosa, mas admirável dos verdadeiros cientistas. No íntimo dêstes, brilha uma chama que o vulgar desconhece. Anima-os o ideal que não conhece canseiras, nem mede altura do sacrifício. Obscura e modestamente vivendo grande número, incompreendidos muitos, perseguidos até, outros, mergulham, não raro, na eterna treva, para surgir, mais tarde, aureolados na lembrança dos homens, como verdadeiros benfeitores da humanidade."

Citei, então, o caso de Adolpho Lutz, o grande, notável cientista brasileiro.

Neste ano foi que o Dr. Oswino Pena Sobrinho iniciou o preparo dos sôros antiofídicos (ob. cit.).

Recebemos, nesse período, 2.485 cobras, contra 7.301 em 1935. Foi, realmente, um colapso do recebimento de sôro, que nos levou a esta diminuição e já explicamos, páginas atrás, o porquê dessa falta, pela denúncia do contrato que tínhamos com Vital Brazil. Em todo caso, de 1.918 a 1.936, passaram pelo Instituto, 48.730 serpentes.

Tivenos que diminuir a propaganda, para evitar o aumento do "deficit", que cresceria, fatalmente, com a remessa de cobras. Foi nesta época que apelamos para a Rádio Inconfidência, para auxiliar a nossa campanha.

Morreram no serpentário, nêste ano, 2.211 cobras, o que, certamente não aconteceria, se a fazenda de criação estivesse funcionando. Colhemos 15,602gr. de veneno e pouco dêste enviamos ao Instituto Vital Brazil.

A seção de Parasitologia já tinha se iniciado no preparo do fabrico do sôro entre nós. Precisávamos ter, para isto, o respectivo "stock". Mandei construir as cocheiras para os cavalos, para que tudo se regularizasse.

Enviamos aos fazendeiros, apenas, 2.808 caixas para colheita e remessa das serpentes, e enviamos 509 tubos de sôros diversos, num total avaliado, naquela época, em Cr$ 571.425,00!

Das cobras venenosas recebidas, predominava, como era a regra, a Bothrops jararaca, com 1.038 exemplares, de confronto com o Crotalus terrificus terrificus, com 852 exemplares e a Bothrops neuwiedii, com 152.

Fornecemos várias coleções a educandários desta Capital e encaminhamos, através da nossa embaixada em Londres, uma coleção típica para a Escola de Medicina Tropical daquela cidade.

Em 1936, no Instituto, deu-se um acidente desagradável, mas bastante expressivo, para provar ainda uma vez o valor da soroterapia específica. O servente J. O. foi picado por um cascavel, tendo uma das presas atravessado uma perfuração da bota (ilhões), sem a qual os serventuários não penetravam no serpentário; o paciente recebeu, apenas, como terapêutica exclusiva, 4 tubos de sôro anticrotálico, restabelecendo-se prontamente, tendo sòmente, 2 dias de folga para repouso.

Foi neste ano publicado o trabalho, dos mais originais, de Evandro de Barros, sôbre a Hipersensibilidade ao Veneno Ofídico. Êle mostrou, numa obra raramente semelhante a outra publicada em nosso País, o que se passou com êle e o veneno ofídico. Históricamente, foram J. Zozaya e B. E. Stadelman os primeiros a falar na matéria. O fato, resumido, era o seguinte: Evandro de Barros, durante alguns anos, trabalhou na seção antiofídica. Depois, começou a notar que, tôda vez que extraía veneno, ou lidava com a peçonha dessecada, apresentava fenômenos que, mais tarde, êle rotulou, com certeza, de fenômeno alérgico (espirros, rinorréia intensa, sêde forte, sudação, dispnéia, tosse com secreção abundante), fenômenos que cediam com adrenalina, afedrina e efetonina. Chegou a tal ponto a sua hipersensibilidade que bastava abrir uma placa com veneno dessecado numa sala, fechando-a depois, para que êle, ao penetrar neste recinto, tivesse fenômenos de sensibilização.

Já em 1937, o mesmo pesquisador havia publicado (ob. cit.) outro interessante trabalho sôbre a hipersensibilidade ao veneno dos maribondos, do qual relatava até 1 caso de morte após a picada de um *Polistes canadensis*. A mesma hipersensibilidade apresentou outro pesquisador incumbido dos trabalhos na seção: o Dr. João Baeta da Costa.

Recebemos, neste ano, 4 exemplares de Lachesis muta e estávamos dispostos a uma revisão desta espécie, de grande intrêsse para nós.

Pensamos, então, em organizar as Memórias do Instituto Biológico Ezequiel Dias, que tantos trabalhos, mais tarde, haveria de publicar. Tínhamos, já, material para 3 números, seguramente, das Memórias.

Arquivamos mais 11 observações de acidentes ofídicos, perfazendo um total de 281 casos.

Em 1937, já estávamos em franca produção de sôro antiofídico, sendo dela incumbido o Dr. Oswino Pena Sobrinho que, mais tarde, em 1943 (ob. cit.), publicou sôbre o assunto pormenorizado trabalho,

com a descrição da técnica empregada. As seções tinham, então, já uma grande economia e no fim de cada exercício o encarregado apresentava relatório minucioso do trabalho, que ia fazer parte do Relatório Geral do Diretor. Era por isso que, cada ano, mais se engrossavam os dados relativos ao Relatório Geral da Diretoria. Mostrava-se, assim, o esfôrço comum em benefício de um ideal de ciência, trabalho, e de humanidade.

Tínhamos organizado uma cocheira provisória, com cada cavalo de certo tipo que, préviamente, eram examinados, para saber se estavam fortes. Dessas cocheiras primitivas. damos fotografias nos Ensaios. Por êsse ano já havíamos cedido 50% dos nosso terrenos para que, com êsse dinheiro se iniciassem as construções do futuro Instituto Biológico na Gameleira.

A supervisão do serviço de Parasitologia cabia ao Dr. Amilcar Viana Martins. Foi um trabalho corajoso o de se tentar fazer, na Praça da Liberdade, quase sem espaço, os sôros antiofídicos, mas o resultado foi realmente bom.

Enviamos aos fazendeiros 1.988 tubos de sôro já feitos no Instituto. Recebemos 1.896 cobras, correndo esta quebra de recebimento à denúncia do contrato pelo Instituto Vital Brazil, que nos deixou desarmados algum tempo, até que pudéssemos fazer o nosso próprio sôro. O Instituto Vital Brazil só nos podia enviar 300 tubos por mês o que, realmente, era insuficiente para os nossos serviços.

Registramos um caso de cura de acidente ofídico, tratado com sôro já preparado no Instituto. Dissemos, então, no Relatório dirigido ao Secretário da Educação, Dr. Christiano Machado: "Anexo encontrará V. Excia. um Boletim, o primeiro, do resultado do emprêgo de sôro curativo contra a picada de cobras. Já é um consôlo na luta de todos os dias, em todos os momentos, resultado como êste."

As instalações para os cavalos de sôro eram rudimentares. Não tínhamos salas para sangrias, sendo esta feita num tronco que mandamos confeccionar para tal. Não tínhamos, também, bons aparelhos de contenção para grandes animais que, não raro, se machucavam, no tronco onde eram presos. Tudo foi improvisado e a colheita do sangue era feita ao ar livre, com a melhor assepsia, possível. Apesar dêsses meios rudimentares, perdíamos em média, apenas 26% das sangrias, o que é, entre nós, uma cifra relativamente baixa.

Recebemos nesse ano, 228 serpentes não venenosas, tendo morrido no serpentário, 1.391 exemplares. Isto constituía, realmente, perda considerável. Era a demonstração eloqüente de que era necessária a Fazenda a que nos temos referido no decurso dêste trabalho, para repouso e engorda das serpentes e dos escorpiões.

Extraímos 100,326gr. de veneno, tendo havido falta de veneno crotálico, para o preparo do respectivo sôro. Soubemos, depois, que a falta foi geral em todo o País e isto encontra explicação em dois fatos principais: 1. — a menor quantidade de C. terrificus terrificus, em relação

com o Bothrops; 2.'' — a maior porção de veneno crotálico empregado no preparo do respectivo sôro?

Tivemos necessidade de empregar uma outra técnica para obter veneno: foi a compra da peçonha. Isto constituiu, depois, uma indústria em nosso Estado, pois pagávamos a 100, depois a 120 cruzeiros a particulares, cada grama de veneno. Daí, os serpentários particulares (vide fotografia), que se estabeleceram para o comércio.

Remetemos neste ano, aos fazendeiros, 2.785 caixas para o transporte de ofídios.

Depois de nossos estudos mais pormenorizados, verificamos que, para manter nível de trabalho como até aqui, seriam necessárias, pelo

Um dos Serpentários de onde vinham os venenos que comprávamos — Serpentário da Fazenda Pirajá, de Antonio Soares Figueiredo. — Fortaleza, Norte de Minas

Êste serpentário estava dividido em três seções iguais, com água corrente, sendo esta fotografia das cobras Crotalus terrificus terrificus (cascavéis). Havia, também, seções de robras não-venenosas. O proprietário disse que tinha mais de 300 ofídios presos, dos quais tirava venenos para fornecer aos Institutos que necessitassem

menos, 5.000 caixas para êste transporte. Daí as nossas dificuldades, porque não tínhamos uma oficina suficientemente aparelhada e tínhamos que comprar caixas, empregando uma grande verba neste pormenor.

Ainda aqui dominava a espécie Bothrops jararaca, em 723 exemplares, vindo em segundo lugar o Crotalus terrificus terrificus, com 625 e, por último, 1 exemplar de Lachesis mutus. Fornecemos, a vários educan-

dários, coleções de ofídios para os respectivos museus, e arquivamos mais 9 observações de acidentes por picadas de cobras, perfazendo um total de 247 casos.

Em 1938, recebemos 1.844 ofídios, sendo 1.480 adultas, vivas, 223 filhotes e 141 mortas. Esta baixa mostra, ainda, como foi difícil adquirir, novamente, o mercado perdido; mas estávamos relativamente bem e já havíamos saldado o antigo "deficit" para com os fazendeiros e não foi necessário comprar ofídios a dinheiro, o que já era feito por outros Institutos similares, segundo infomações que tivemos por viajantes. Alguns dêles nos informavam que ofereciam vantagens magníficas aos fazendeiros e sitiantes, em tróca de veneno sêco ou de cobra venenosa, adulta.

Havíamos recebido, até aqui, 52.470 cobras, em 20 anos de trabalho. Enviamos aos fazendeiros, 2.923 tubos de sôro, todo êle já preparado no Instituto, tendo colhido 30,786gr. de várias peçonhas que, somadas ao que tínhamos, davam um total de 350,513gr. do nosso estóque. Compramos nesse ano, veneno crotálico, a Cr$ 120,00 a grama, pois a compra pelos outros Institutos valorizára o produto.

Um fato é digno de assinalar: é que, quanto menos caixas nós enviávamos, tanto menos cobras recebíamos. Daí a necessidade que notamos de fazer circular as caixas o mais rápido possível, não importanto que muitas se perdessem ou não voltassem por culpa dos fazendeiros. Houve, por exemplo, 142 fornecedores que nos enviaram as caixas com ofídios, sem a menor indicação da procedência, do nome e data da remessa. A êstes não pudemos atender.

Transcrevemos, agora, parte do relatório que, sôbre o prerapo do sôro, enviou ao Diretor-Geral o Dr. Oswino Pena Sobrinho, o qual fôra incumbido do preparo dos sôros antiofídicos, desempenhando-se ótimamente da sua missão:

Cavalos imunizados	11
Cavalos mortos	1
Cavalos maleinizados	3
Dosagens de sôros	65
Sangrias exploradoras	36
Sangrias definitivas	19
Sangrias rejeitadas	2

Empôlas de sôros obtidas	3.513,	sendo
	324	anticrotálico
	3.189	antibotrópico

Veneno gasto:

Botrópico	37,923 gramas
Crotálico	24,139 gramas

Soluções ""stock" de veneno:

Botrópico	800 cc.
Crotálico	600 cc.
Anaveneno botrópico	2.000 cc.
Anaveneno crotálico	2.000 cc.
Abcessos abertos e drenados	37
Esponja	1
Gangrena gasosa	1

Cavalos inoculados com sangrias fornecidas e números de empôlas: *Cavalo n.º 1*:

1 vez: 2 sangrias com um total de 331 empôlas
2 vez: 3 sangrias com um total de 1.175 empôlas
3 vez: ainda não sangrado

Total: { Sangrias — 5
Empôlas — 1.506 (antibotrópico)

O veneno em "stock" no Instituto Biológico Ezequiel Dias, durante o ano de 1938, de acôrdo com o Relatório do Dr. H. Vecchio Maurício, era o seguinte:

C. terrificus terrificus	13,308 gr.
B. jararaca	155,540 gr.
B. atrox	32,670 gr.
B. neuwiedii	9,990 gr.
B. jararacussú	108,750 gr.
B. alternata	18,880 gr.
L. mutus	11,375 gr.
Total	350,513 gr.

Publicamos os Boletins referentes a êsse ano, conservando tudo como foi impresso na época.

A seção antiofídica era, sem dúvida, nessa ocasião, uma das mais importantes do Instituto Biológico Ezequiel Dias. Foi nesse ano que chamamos a atenção do govêrno para a desburocratização do Instituto, permitindo a sua expansão científica e mesmo comercial.

Quando voltamos da nossa viagem de estudos pelos Estados do Brasil, trouxemos a convicção de que já 4 Institutos produziam sôros antio-

fídicos em nossa terra: o Instituto Butantan, o Instituto de Pinheiros (S. Paulo), Vital Brasil (Estado do Rio) e Biológico Ezequiel Dias (Minas Gerais). Havia, por isso, uma grande concorrência para obtenção de cobras venenosas, de modo que a organização do serviço do Pôsto Antiofídico em Minas Gerais tinha de ser rigorosamente prática, para um bom resultado na colheita, não se perdendo tempo com a papelada, que só serve para entravar os trabalhos, e que tanto mal tem feito, ainda faz, ao Brasil.

Neste ano, recebemos 1.644 ofídios, mas a seção ficou profundamente ferida. Morto Evandro de Barros, o Dr. Breno Furtado foi transferido para a seção de raiva e o Dr. Hélio V. Maurício ingressou na Marinha de Guerra Nacional. Foi preciso um reajustamento, para que a seção continuasse a trabalhar sem desfalecimento.

Pugnávamos, ainda uma vez, nesta época, para o contrato com um ofiólogo de valor, a fim de reestudar com cuidado as espécies, gêneros e família, de cobras encontradas em Minas Gerais.

Total	23,739 gr.	Crotálico	6,055 gr.
		Botrópico	17,084 gr.
		Laquético	0,600 gr.

Como vemos, era muito pouca peçonha para o preparo do sôro dentro do Instituto. Tínhamos que comprar veneno. Já o comércio para estas peçonhas estava organizado no Estado. Fomos procurados por vários viajantes interessados e compramos 168,509gr. de veneno botrópico e crotálico à razão de Cr$ 120,00 o grama, ou sejam, Cr$ 20.221,08, o que foi para nós, uma grande sangria nas verbas de que dispúnhamos.

Enviamos aos fornecedores, 1.711 tubos de sôro e recebemos 1.455 cobras venenosas, dominando ainda aqui o Bothrops, espécie jararaca, com 988 exemplares, enquanto o Crotalus terrificus terrificus compareceu com apenas 329. Recebemos também 189 cobras não venenosas.

Entraram para o serviço o Dr. A. A. Tupinambá e o Dr. Oswaldo Mendes Moreira.

Foi nesse ano que se fundou, no Instituto, a Sociedade de Biologia de Minas gerais.

Registramos 20 observações de picadas, perfazendo o total de 301, sendo que uma das mais interessantes observações foi de E. Motta, com paralisia, pelo veneno crotálico, no membro lesado.

Em 1940, foi o último Relatório que apresentamos ao govêrno mineiro, pois abandonamos o Instituto antes do fim de 1941. Foi também o último que escrevi na velha casa da Praça da Liberdade, onde, durante tantos anos trabalhei por um ideal.

Recebemos 2.503 ofídios e, de acôrdo com o quadro abaixo, tem-se que haviam passado pelas nossas mãos, 56.617 cobras.

1918	336	cobras
1919	901	"
1920	1 636	"
1921	1 840	"
1922	1 748	"
1923	1 660	"
1924	1 392	"
1925	1 562	"
1926	1 622	"
1927	1 522	"
1928	1 412	"
1929	1 589	"
1930	1 743	"
1931	3 218	"
1932	4 346	"
1933	5 980	"
1934	6 437	"
1935	7 301	"
1936	2 485	"
1937	1 896	"
1938	1 844	"
1939	1 644	"
1940	2 503	"
Total	56 617	"

Era um número formidável de ofídios, que tivéramos nas mãos para estudo e aproveitamento do veneno. Infelizmente, o seu aproveitamento não foi completo, como era de se desejar.

Afortunadamente, estavam quase terminados os pavilhões da Gameleira e as perspectivas eram melhores, pois os trabalhos do Instituto cresciam dia a dia e isto era fácilmente perceptível pelos tomos dos nossos relatórios, compendiando também os relatórios parciais das diferentes seções. . .

Ainda uma vez foi mostrada a importância da doença de Chagas, como endemia rural. Dissemos, então: "Salvo a malária, não há problema sanitário no nosso País que se lhe avantaje na extensão e importância" (Pp 12, Relatório 1940). O Departamento de Parasitologia do Instituto Ezequiel Dias deu grande incremento ao estudo da doença de Chagas em Minas Gerais.

Em 13 de maio dêsse ano inaugurou-se oficialmente, pelo Presidente da República, o Instituto Biológico Ezequiel Dias, na Gameleira, mas algum tempo ainda se passou até que lá nos instalássemos definitivamente.

Registramos ainda 8 acidentes por picadas de ofídios, perfazendo um total de 301 casos e, dos 2.503 ofídios recebidos, 225 eram filhotes e 80 vieram mortos. Em tróca mandamos 1.000 tubos de sôros diversos. Não computamos aqui as 685 outras observações do arquivo geral da seção, porque não variavam nas informações. Elas entrarão, porém, no cômputo geral das percentagens.

Nesse ano procurou-nos o Dr. Joseph Bapley, técnico norteamericano, dizendo ser preciosa a nossa coleção de ofídios e que os mostruários referentes à Lechesis muta eram mais ricos do que os dos museus norte-americanos.

Tínhamos em estoque, veneno:

297,130gr., assim distribuídos:

Bothrops jararaca	18 gramas
Crotalus terrificus terrificus	10 gramas
Bothrops jararacussú	10 gramas
Bothrops alternata	10 gramas
Bothrops neuwiedii	5 gramas
Bothrops atrox	2 gramas
Perdidos por defeito de estufa	30 gramas
Comprados	212,130 gramas

Era o bastante para o preparo do sôro. Ainda aqui, dêsse ano, as serpentes do gênero Bothrops dominavam completamente o cenário.

Os exemplares botrópicos elevaram-se a 1.609, enquanto que o Crotalus terrificus terrificus não passou de 534. Recebemos nesse ano ainda um exemplar de Lachesis muta.

Transcrevemos, adiante, uma das cartas que recebemos com respeito ao emprêgo do sôro preparado no Instituto.

Capítulo IV

OBSERVAÇÕES CLINICAS

As observações hoje publicadas foram retiradas do Arquivo das 980 registradas, no Instituto Biológico Ezequiel Dias. Muitas já serviram de base para trabalhos publicados por Oswaldo de Mello Campos, Breno Gomes, etc. Outras são inéditas. É bem de ver que não iremos publicar tôdas as 980, senão que, sòmente as que possam dar uma idéia do assunto que escrevemos.

Conservamos em quase tôdas, a redação dos remetentes que, além do mais tem, não raro, o sabor da linguagem do povo. Em quase tôdas guardamos, também, a respectiva ortografia como nos foram enviadas.

OBSERVAÇÕES:

N.º 1 — "M., 43 anos de idade, residente em União de Barbacena, picado por uma cobra (jararacussú?) acima do tornozelo. Apresentou perturbações visuais, edema considerável que atingiu a raiz da coxa, hemorragias, local e bucal. Hematémese. Tomou purgativo salino seguido de enterorragia. Hematuria. O tratamento consistiu na injeção de 10cc de sôro antibotrópico e 10cc de sôro antiofídico, 6 horas após a picada. Melhora. O doente continuou com hematuria. Perturbações gastrointestinais (vômitos e diarréia), vindo a falecer no fim de 15 dias. (observação enviada pelo fornecedor Sebastião Candido Amaral).

Não nos parece certa a identificação da cobra, porque não existe jararacussú em União."

Nota: — Daí, a necessidade e a importância do quadro que foi por nós organizado e que é publicado junto com êste trabalho, sôbre a distribuição dos ofídios venenosos no Estado de Minas.

"É mais provável tratar-se de atrox, cujo veneno é semelhante ao de jaracussú. O sôro foi insuficiente em qualidade e quantidade, porque o envenenamento por atrox exige de preferência sôro antiofídico na dosagem de 50 a 60cc. Esta observação vem mostrar ainda a inconveniência de purgativos nos envenenamentos por picadas de cobra, por favorecerem as enterorragias."

"N.º 2 — Moço. Picado por cascavel. Apresenta perturbações visuais, hemorragia bucal, dispnéeia e anuria. Tomou 10cc de sôro anticrotálico, 5 horas depois mais 10cc e no dia seguinte, 10cc de sôro antiofídico. Morte.

N.º 3 — J., 21 anos de idade, picado por uma cascavel no calcanhar. Tomou 20cc de sôro 4 horas após o acidente. Morte. Estas duas últimas observações são incompletas. Vê-se que foi insuficiente a dose de sôro empregada, que nunca deve ser inferior a 50cc.

N.º 4 — J. C. — Picado por cascavel no carpo esquerdo, a 23 de Outubro de 1923. Duas horas depois do acidente recebeu 10cc de soro anticrotálico. 6 horas depois, mais 10cc. No dia seguinte, mais 10cc por via endovenosa e no terceiro dia mais 10cc, também na veia. Melhora relativa. No quarto dia, os sintomas se agravaram novamente, sendo feita a injeção de 10cc de sôro anticrotálico; à noite dêste dia, mais 20cc de sôro antiofídico. No 5.º dia faleceu. No decurso da doença, apresentou hemorragia (?), paralisia das pálpebras e edema. A observação é incompleta e queremos crer que o caso era grave desde o comêço, sem dúvida pela grande quantidade de tóxico inoculado. A dose de sôro injetada, de início, deveria ter sido no mínimo de 60cc. É fato geralmente sabido que o tratamento soroterápico, em qualquer moléstia, é tanto mais eficaz quanto maior a quantidade de sôro injetado. É por isto que sempre aconselhamos doses nunca inferiores a 50cc.

N.º 5 — A. D., brasileiro, pardo, solteiro, 17 anos de idade, lavrador, picado por cobra (?) no dorso do pé. Hematémese. Gangrena do pé, dôr. A gangrena destacou-se 13 dias após o acidente. A gangrena se estendeu à perna, sendo necessário praticar a sua amputação, o que foi feito pelo Prof. Borges da Costa, em 13 de Setembro de 1915. A perna amputada se acha no Museu do Instituto.

N.º 6 — Empregado de C. Reichert, de Theophilo Ottoni, picado por uma jararaca. Nenhum tratamento. Faleceu vários dias depois (obs. incompleta).

N.º 7 — D. B., picado por surucucutinga (Lachesis mutus). Morte em 45 minutos.

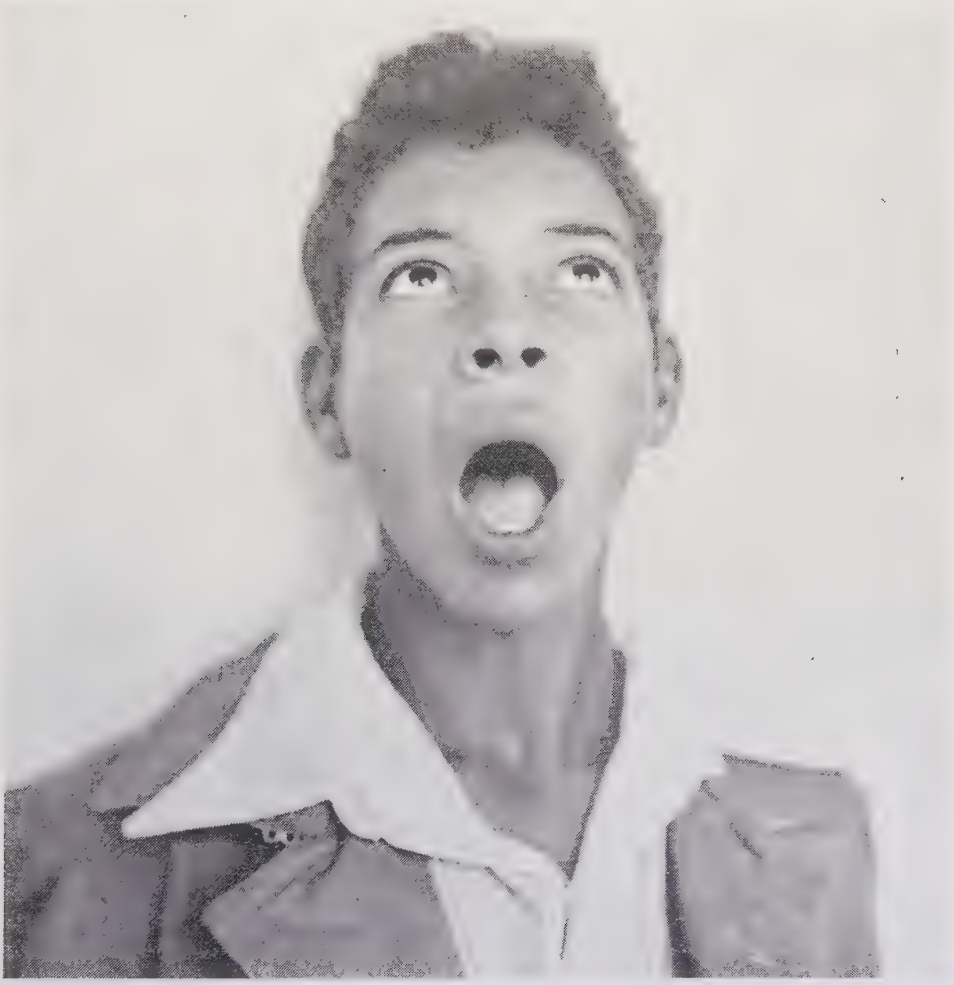
N.º 8 — E., picado por jararacussú. Morte em 24 horas.

N.º 9 — Filho de V. L. — Picado por surucucutinga. Morte em 24 horas.

N.º 10 — Menino de 11 anos de idade, picado na cabeça, durante o sono, por um cascavel. Nenhum tratamento. Edema da cabeça, hemorragia ( ). O paciente restabeleceu-se no fim de algum tempo, ficando, porém, cégo. (Observação enviada pelo farmacêutico A. Dias de Oliveira, de Capetinga, que não empregou o sôro por oposição dos pais do menino. É extrema a violência do veneno da

J.F.S. — 72 horas apOs o acidente com o C.terrificus terrificus. Soroterapia insuficiente. Oftalmoplegia dupla.

Surucucutinga. Infelizmente, o Instituto não possuia ainda sôro específico contra êste veneno, motivo porque tinha grande interêsse em estender a sua propaganda às matas do Leste Mineiro, onde existe grande quantidade desta cobra, a fim de obter o veneno necessário ao preparo do sôro. O Dr. VITAL BRASIL nos forneceu 6 tubos de sôro contra o veneno da surucucutinga, porém não pudemos distribuí-lo aos fazendeiros, por ser ainda fabricado em pequena quantidade."



J.F.S. — Observação após a cura com sôro específico, em maior quantidade. — *Nota*: — Esta observação foi cedida ao Dr. Breno Gomes.

N.º 11 — Menino ofendido por uma cascavel, tratado em casa sem sôro, veio a falecer em poucas horas (SEBASTIÃO C. AMARAL). Julgamos útil publicar algumas das observações de acidentes tratados pelo sôro, com bons resultados, não só para mostrar sua eficácia nos casos graves, como também para referir sintomas interessantes do envenenamento crotálico.

N.º 12 — J. M., pardo, solteiro, com 22 anos de idade, lavrador, natural e residente em União de Barbacena. Pais vivos e sadios. Tem 12 irmãos fortes, tendo perdido um por picada de cobra, com sintomatologia idêntica à que o paciente apresenta agora. Em criança, foi ofendido por cobra (jararacussú?). Gozou sempre boa saúde. Não adquiriu lues. No dia 24 de Março de 1920, foi picado por uma jararacussú (?) no grande pedartículo esquerdo. Durante 4 dias fez tratamento caseiro. No fim dêste tempo recebeu 20cc de sôro antibotrópico e 6 horas depois, 100c de sôro antiofídico. Ligeiras melhoras. No dia seguinte, 10cc de sôro anticrotálico. O doente, que apresentava edema hemorrágico atingindo o joelho, a língua e os dentes (?) pretos, e completa inconsciência, obteve grande melhora depois da última injeção. No dia seguinte o edema tinha desaparecido por completo, exceto no grande padartículo, onde houve gangrena, que exigiu a sua desarticulação. Três dias depois de iniciado êste tratamento, sobreveio hemiplegia direita. Consultado sôbre o que devia fazer, aconselhamos a vinda do doente para Belo Horizonte, onde chegou a 30 de Abril, internando-se na enfermaria do Prof. Libânio. O exame praticado na ocasião revelou hemiplegia flácida direta sem acometimento do facial, com desvio da língua para o lado direito. Babinski. Confusão mental Cefaléia, chôro emotivo. O doente fez uso de morfina, valeriana e bromureto, sem proveito para o seu estado mental. Com injeções de estricnina, obteve melhoras e a 11 de Maio já conseguiu narrar alguns episódios da moléstia. A 14 de Julho teve alta, curado. O saudoso Prof. Alvaro de Barros atribuiu os sintomas nervosos a hemorragias múltiplas ao nível do feixe piramidal. Esta observação vem mostrar, mais uma vez, a afinidade do veneno para o sistema nervoso, através dos vasos.

N.º 13 — J. A.. 40 anos de idade, picado por cascavel no pé esquerdo. Cegueira. Pequena hemorragia e *paralisia parcial das pernas e braços*. Recebeu sôro anticrotálico com ótimo resultado.

N.º 14 — J. N., 44 anos de idade, picado por cascavel. Cegueira e edema local. Disfagia. O doente apresenta *corpo duro e dolorido e repuxamento nos nervos*. Sete horas após o acidente, injeção de sôro. Cura.

N.º 15 — A. V., 12 anos de idade, picado por uma cascavel, na perna. Cegueira e ligeiro edema local. Durante 2 dias o paciente esteve com o *corpo duro*, sonolência profunda, dôr nos tendões, na língua e nuca. Temperatura, 38ºC. Com o tratamento soroterápico o doente obteve cura. Estas duas últimas observações foram enviadas pelo Dr. Sabastião do Amaral, de União. Ignoramos o significado da expressão *corpo duro*.

N.º 16 — J. D. S., de 25 anos de idade, picado por urutú, na falangeta do indicador. Edema hemorrágico com necrose do tecido. A soroterapia deu bom resultado, sendo entretanto necessário praticar-se a exérese do tecido mortificado (Dr. Lodi).

N.º 17 — S. B., preto, 26 anos de idade, lavrador, picado por jararaca, no pé direito. Fêz tratamento caseiro durante dois dias, sem resultado. No fim dêste prazo recorreu ao sôro. Apresentava-se prostrado, muito fraco, subfebril, edema hemorrágico local, hemoptises (?), hematémese, enterorragia, hematuria, purpura hemorrágica. Com 20cc de sôro antiofídico, houve restabelecimento completo do paciente. (Observação enviada pelo Sr. Aristides Dolabella, de Manhuassú).

Além destas observações, possuímos no Museu do Instituto duas peças anatômicas provenientes de envenenamentos." (ob. cit. 1925, O. M. C.)

Êste trabalho do Dr. Oswaldo de Melo Campos, publicado em 1935, era acompanhado de 3 fotografias de peças do Museu do Instituto Ezequiel Dias: 2 pernas e 1 antebraço amputados devido a gangrena, pelo veneno Botrópico. Estas peças haviam sido oferecidas ao Instituto pelos Professôres Borges da Costa, Otaviano de Almeida e Adelmo Lodi, com a declaração de que não haviam recebido sôro.

N.º 18 — J. C. de Abaeté, picado por cascavel. Sôro antiofídico. Cura.

Acidente por picada de Xenodon merremii (Feridas sangrentas)

N.º 19 — J. R. B., de Carandaí, 40 anos, picado no pé por jararacussú, apresentando hemorragia abundante, edema local e paralisia da perna ofendida. Tratado por sôro antibotrópico (3 tubos). Cura.

N.º 20 — A. R. S., 70 anos, de Carandaí, picado no pé por jararacussú, apresentando hemorragia, vômitos, edema e paralisia. Tratado pelo sôro antibotrópico e antiofídico. Cura.

N.º 21 — F. D., 19 anos, de Tartária, picado no antebraço por urutú, edema considerável, paralisia do braço. 40cc de sôro. Cura.

N.º 22 — A. C., 28 anos, de Silvianópolis, picado na perna por urutú. 20cc de sôro antibotrópico. Cura.

N.º 23 — A. C., 10 anos, de Silvianópolis, picado por cascavel no pé. Edema local. Sôro. Cura.

N.º 24 — A. C., 60 anos, de Silvianópolis, picado na mão por urutú. Edema local. Sôro antiotrópico. Cura.

N.º 25 — P. A. S., 20 anos. Silvianópolis. Picado na mão por urutú. Edema local. Sôro antibotrópico. Cura.

N.º 26 — M. S. L., 19 anos, Silvianópolis. Picado na perna por urutú. Hemorragia, edema considerável. Sôro antibotrópico. Cura.

N.º 27 — A., Carandaí, picada na mão por um jararacussú. Sôro antibotrópico. Cura.

N.º 28 — M. A., 14 anos, Silvestre Ferraz, picado por cascavel na perna. Sôro anticrotálico. Cura.

N.º 29 — B. G., 21 anos, Silvestre Ferraz, picado por cotiara. Edema, perturbações visuais. Sôro antiofídico. Cura.

N.º 30 — L. L., Miraí. Picado por jararaca. Edema, tonteira, perturbações visuais. Sôro. Cura.

N.º 31 — A. M., 17 anos, Tartária, picado por neuwiedii, no pé direito. Grande edema local. Sôro antibotrópico. Cura.

N.º 32 — Comunicação em 26 de Janeiro de 1925, do Sr. José de Paiva Guedes, residente em Santa Helena. 6 acidentes humanos, por jararaca. Tratados pelo sôro antiofídico. Resultado bom.

N.º 33 — B. S. do sexo masculino, com 23 anos de idade, residente em Ouro Fino, ofendido por cascavel, em 27 de janeiro de 1926. Tratamento pelo sôro anticrotálico. Resultado: máu.

N.º 34 — A. I. S., do sexo masculino, com 28 anos de idade, residente em Rio Novo, ofendido por jararaca. Tratamento pelo sôro antiofídico. Resultado: bom.

N.º 35 — J. J., do sexo masculino, com 40 anos de idade, residente em Santo Amaro, ofendido por jararacussú. Tratamento pelo sôro antiofídico. Resultado: bom.

N.º 36 — O. M., do sexo masculino, com 20 anos de idade, residente em Santo Amaro, ofendido por urutú. Tratamento pelo sôro antibotrópico. Resultado: bom.

N.º 37 — J. A., do sexo masculino, com 25 anos de idade, residente em Santo Amaro, ofendido por jararaca. Tratamento pelo sôro antiofídico. Resultado: bom. Comunicação em 10 de Agôsto de 1926.

N.º 38 — Tratamento de um equino pelo sôro antiofídico, ofendido por cobra de ignorada espécie, em Santo Amaro. Resultado: bom. Comunicação em 8 de Fevereiro de 1926.

N.º 39 — L. P., com 30 anos de idade, do sexo masculino, residente em Santo Amaro, ofendido por jararaca. Tratamento pelo sôro antibotrópico. Resultado: bom. Comunicação em 30 de Novembro de 1926.

N.º 40 — F. B., do sexo masculino, com 38 anos de idade, residente em Mirahy, ofendido por jararaca. Tratamento pelo sôro antibotrópico. Resultado: bom.

Servente J. F. — Picado em um dos dedos da mão esquerda, por um cascavel (Crotalus terrificus terrificus). Edema que se estendeu até o cotovelo.

Servente N. O. — 1 hora após a picada por um Bothrops jararacussu — Edema da mão

N.º 41 — A. F., do sexo masculino, com 38 anos de idade, residente em Palma, ofendido por jararaca. Tratamento pelo sôro antibotrópico. Resultado: bom. Comunicação em 4 de Abril de 1926.

N.º 42 — A. T., do sexo masculino, com 38 anos de idade, residente em Japão de Oliveira, ofendido por cascavel. Tratamento pelo sôro (não especificado). Resultado bom.

N.º 43 — J. C. S., do sexo masculino, com 26 anos de idade, residente em Traituba, ofendido por urutú. Tratamento pelos sôros antibotrópico e antiofídico. Resultado: bom Comunicação em 26 de Julho de 1926.

N.º 44 — J. V. S., com 59 anos de idade, residente nas imediações do km 630 da E. F. Central do Brasil. Picado no dorso do pé esquerdo às 4 horas da tarde do dia 16 de fevereiro de 1927 nas vizinhanças de sua residência. Logo depois do acidente foi-lhe feito, pelos circunstantes, um tratamento com benzeduras, fumo, cachaça e cainca (?). A cobra foi morta pela vítima e abandonada, não sendo reconhecida a espécie. Apresentou-se no Instituto Ezequiel Dias, às 9 horas da manhã do dia 18 (41 horas depois do acidente), acompanhado pelo seu filho Emílio e pelo Sr. José Lourenço de Salles, em um automóvel, no seguinte estado: resolução muscular quase completa, com 50 pulsações, arrítimicas, por minuto e 37º,4 de temperatura axilar. Respiração Cheyne-Stokes e o olhar brilhante. Não falava e apresentava cegueira completa. O pé ofendido estava edemaciado. Apresentava pequenas crises de soluço. Gengiva sanguinolenta. Pouco depois do acidente, segundo informação de seu filho, vomitava sangue e tinha tremores. O tratamento feito no Instituto, imediatamente depois de sua entrada, foi o seguinte: injetamos 1 empôla de Digalene, 40cc de sôro anticrotálico, 30cc de sôro antibotrópico e 30cc de sôro antiofídico, dando um total de 100cc de sôro, sendo 20cc na veia e 80cc hipodérmico. Às 2 horas da tarde ainda não falava. Apresentava cegueira, 26 movimentos respiratórios já ritmados e 64 pulsações por minuto, sonolência e a temperatura 38ºC.

Às 3,30 da tarde foram-lhe injetados, novamente, na veia, 20cc de sôro anticrotálico e 10cc de sôro antiofídico apresentando, logo depois, outra pequena crise de soluço. Às 4 horas da tarde (48 horas depois do acidente), foi transportado pela Assistência Pública para a Santa Casa.

No dia 19, às 10 horas da manhã, telefonaram da Santa Casa que o doente continuava mal. Neste mesmo dia, às 13 horas, tivemos a mesma notícia. Injetamos mais algumas ampolas de sôro antiofídico. Alta curado, alguns dias depois.

Esta dramática observação foi verificada, também, pelo Diretor de Higiene do Estado.

N.º 45 — "... houve 2 ofendidos em quem apliquei as injeções, dando bons resultados..." (trecho da carta do Sr. Newton Ferreira Leite, de 6/4/1927, de Oliveira, Minas).

N. º46 — "... quando eu saltava de uma cêrca o maldito bicho (urutú) me pegou no pé esquerdo, estive bem mal, felizmente hoje me acho sem novidade..." (trecho da carta do Sr. Alcides Seixas Pereira, no dia 6/4/1927.

N.º 47 — '... já empreguei o sôro em um cavalo que foi picado por uma cobra, que estava em estado muito grave e no dia seguinte o cavalo já estava pastando e parecia que não sofria mais nada..." (trecho da carta do Sr. Joaquim Vieira Machado, da Estação de Simplício, em 8/10/1927).

N.º 48 — O Sr. João Custódio Pereira, residente em Tupaciguara, MG, fazenda do Brilhante, tratou do Sr. A. R. M., de 14 anos de idade, ofendido na parte superior do pé esquerdo, um pouco acima das falanges, e também na perna, pouco abaixo do joelho, por uma jararacussú, empregando 5cc de sôro antiofídico 1 hora depois do acidente. Houve cegueira no dia seguinte, tendo o ofendido passado mal, melhorando em seguida, completamente. Não houve paralisia nem hemorragia. Acidente ocorrido em 20-11-27.

N.º 49 — D. S., com 14 anos de idade, residente em Lima Duarte, ofendido na perna esquerda por uma jararaca, no dia 15 de Março de 1927. Tratado pelo Sr. José Ribeiro de Paiva, tomou 1 injeção de sôro antiofídico às 20 horas do

mesmo dia. Não houve hemorragia. Houve paralisia, inchação no lugar mordido e cegueira.

N.ò 50 — O Sr. José Ribeiro de Paiva comunica que, no dia 20 de fevereiro de 1927, uma cobra cascavel mordeu, às 15 horas, o seu melhor cavalo de sela, de 8 anos de idade, no lado esquerdo da cara. Fêz o tratamento empregando 1 ampola de sôro antiofídico e 2 de anticrotálico, ficando o animal perfeitamente curado, depois de haver hemorragia pela "urina", paralisia, cegueira e inchação no lugar ofendido. Observação: "O cavalo retorcia-se de dôr, suava, gemia e por fim caiu sem se poder levantar: depois de terem decorrido 5 horas levantou-se novamente. Eram decorridas 2 horas após a segunda injeção".

N.º 51 — J. P. de O., com 15 anos de idade, residente em S. Gonçalo do Rio Abaixo, mordido no pé direito por uma cascavel, no dia 6 de Agôsto de 1927. Não houve hemorragia; houve inchação no lugar ofendido e começo de cegueira. Tomou, 3 horas depois do acidente, 3 ampolas de sôro (não especifica). Bom resultado com a observação: "com êste já são 3 os casos que foram tratados com o sôro com ótimo resultado".

N.º 52 — Cel. Armando de Almeida Prata, residente em Piraúba, E.F.L.R., fêz tratamento na pessôa de J. A., mordido por uma "jararaca da cauda preta", no pé direito, "perto do tornozelo" empregando, 2 horas depois do acidente, um tubo de sôro (não especificado). Não houve cegueira nem hemorragia ou paralisia. Houve inchação local. Resultado: bom. O acidente ocorreu no dia 4 de Maio de 1927, às 2 horas da tarde.

N.º 53 — F. A., com 28 anos de idade, côr preta, residente à R. Grã Mogol, 197, em Belo Horizonte. Picado por uma Elaps (micrurus) no segundo pedartículo esquerdo, às 8 horas da manhã, do dia 28 de Dezembro de 1927. Apareceu no Instituto, às 9,10 horas dêsse dia, com 36,7ºC de temperatura e 73 pulsações. Vista bôa; ligeiro edema da região ofendida e sentindo muita dôr. Foram-lhe injetadas, nessa hora, duas empôlas de sôro antiofídico. Às 2 horas da tarde voltou ao Instituto sem sintoma algum de envenenamento. A falta de determinação da espécie de Micrurus leva-nos a crer que não se tratasse de coral venenosa, cuja picada provoca fenômenos principalmente nervosos, até semelhantes ao choque anafilático e para cuja mordedura não há terapêutica específica em quantidade suficiente no mercado.

N.º 54 — J. L., residente em Uberaba, ofendido no dia 15 de Novembro de 1927, por um jararacussú, na perna. Tomou 10cc de sôro antibotrópico 2 horas depois do acidente. Resultado: bom.

N.º 55 — L. G., com 21 anos de idade, residente em Sto. Amaro, Município de Queluz, ofendido na perna esquerda por uma jararacussú. Tomou 10cc de sôro antibotrópico, 4 horas depois do acidente. Houve inchação e paralisia. Resultado: bom.

N.º 56 — Uma égua, de propriedade do Sr. Bernardino Pereira, residente em Queluz, ofendida no focinho. Ignora-se a cobra que a picou. Injetaram-se 10cc de sôro antiofídico. Resultado: ótimo.

N.º 57 — J. L., mordido por uma jararacussú, na perna. 1 hora depois foi-lhe aplicada 1 empôla de sôro antibotrópico. Resultado: bom.

N.º 58 — J. S. da S., com 50 anos de idade, mordido em Agôsto, por uma neuwiedii, no pé. Tomou 3 horas depois, 10cc de sôro antiofídico. Logo depois do acidente, teve perturbação mental. Resultado: bom. Observação: "Feita a injeção logo melhoraram as dores e o doente, em poucos dias se restabeleceu. Em Setembro foi ofendido no dedo do pé, U. M., por uma jararaca e o resultado foi igual ao de J. S." (a). Bernardino Alves Pena — St. Amaro de Queluz.

N.º 59 — Cópia da carta do Sr. Misael Castanheira (5-10-1927): "... na fazenda do Sr. Honorio Bernardes foi uma menina picada por uma jararacussú e chamaram um curador e êle depois que a menina perdeu a fala é que manifestou que o caso era perdido, mas depois que êle se desanimou mandei dar duas injeções do sôro para tôdas as cobras e com espaço de um dia ficou bôa. Aqui em casa foi um rapaz picado por um urutú e eu dei-lhe uma injeção quase que na mesma hora e no outro dia começou a trabalhar. Encontreti também uma vaca

picada no focinho e esta já estava encontrando muita dificuldade na respiração e com duas injeções, ficou completamente sã. O inchaço foi demasiado e dentro de 12 horas desapareceu e os sintomas eram de cascavel, porque houve hemorragia pelas ventas. Sei de mais alguns, mas não aqui em casa e também não tratados por mim, mas se..."

N.º 60 — Cópia da carta do Sr. José de Figueiredo Leite, de Hargraves (25-9-1927):

"... junto remeto-vos o boletim sôbre os acidentes de picadas de escorpião e também informo-vos que aqui tem dado alguns casos de picadas de cobra, em dois casos eu apliquei o sôro antiofídico, obtendo logo o resultado satisfatório, em um caso já tinha 48 horas; foram precisas duas doses e no outro foi de pronto só apliquei uma, em outros casos não tratados pelo sôro houve dois casos fatais. Continúo sempre..."

N.º 61 — B. E. de J., com 23 anos de idade, mordido na perna por uma jararacussú, no dia 25 de novembro de 1927. Houve muita inchação. Resultado: bom. Observação: "O tubo empregado trazia a data de 1914 e como não tínhamos outro na ocasião, aplicamos êsse mesmo e fomos felizes, que o paciente, apesar de passar bastante mal à noite, amanheceu melhor e depois de 2 dias levantou-se apesar de bastante "manco" e ainda conserva a ferida até hoje, 16 de dezembro". (a)., Raul Fleury Monteiro.

N.º 62 — J. C. P., com 37 anos de idade, solteiro, vacinado, funcionário público morador em Barbacena. Conta que, quando em companhia de alunos do Aprendizado Agrícola de Barbacena visitava o Instituto, mais ou menos às 11 horas, foi picado ao tentar pegar em uma serpente, que lhe mostrava o servente da Casa. A lesão que se verificou ao nível do têrço inferior do antebraço direito, face interna, foi produzida por uma cobra não venenosa, de côr verde, vulgarmente chamada de "cobra verde ou cipó" (Phylodryas olfersii). No momento nada sentiu nosso observado, a não ser ligeiro susto. Como medida terapêutica limitou-se à aplicação de tintura de iôdo. Ao exame, notamos, 3 horas após o acidente que o nosso paciente apresentava todo o antebraço fortemente edemaciado, deixando ver a pele distendida e marmórea. A circulação venosa, então, se desenhava com nitidez notável, comparada com a do outro braço. Flectia os dedos com alguma dificuldade por isso que provocava dores que se irradiavam para músculos da face posterior do antebraço. A temperatura verificada foi de 36,5ºC. Não apresentava coisa digna de registro para aparêlho algum. A lesão na parte que correspondia ao maxilar inferior da cobra desenhava-se nitidamente em dois semicírculos de pequena curvatura, voltados um para o outro. Não se verificando o mesmo na parte atingida pelo maxilar superior, que esta não apresentava nenhum desenho e mostrava-se escoriada irregularmente, e coberta ainda de algum sangue coagulado. Soubemos depois, por informações, que o nosso paciente tinha seu antebraço cada vez mais edemaciado e já agora se mostrava bem receioso. Alta, curado.

N.º 63 — J. E. de A., com 22 anos de idade, preto, brasileiro, solteiro, residente em Vila Maria Brasilina, nesta Capital, picado por urutú (no dizer do paciente), na face dorsal do quinto dedo do pé esquerdo. Sentiu, na ocasião, dores violentas; grande inchação da região ofendida. Quando observado, seis anos depois do acidente, tanto o pé como o tornozelo, assim como o terço inferior da perna se apresentavam bastante entumecidos. A inchação é ainda agravada por uma ferida no dorso do pé. Algum tempo depois de mordido, apareceram-lhe em ambas as pernas, umas feridas, que já dantes havia o paciente tido. Não tomou sôro na ocasião. Depois de examinado no Instituto, foi-lhe receitado xarope de Gibert. Alta, curado. (Observação tomada em 13/janeiro/1930).

N.º 64 — A..., 45 anos, morador em Oliveira, mordido na perna por urutú. Sentiu fortes dores e inchação. Sôro: 20cc. Curado.

N.º 65 — Uma égua, de propriedade de A. F. L., morador em Oliveira, picada no focinho por cascavel. Cegueira completa, hemorragia e paralisia. Não houve inchação. Sôro: 40cc. Morte.

N.º 66 — Um bezerro de propriedade de A. F. L., de Oliveira, picado "perto do ôlho", talvez por cascavel. Cegueira completa, hemorragia, paralisia e pequena

inchação. Sôro anticrotálico — 10cc, 8 horas após o acidente. Meia hora depois da 1.ª injeção foram aplicados 10cc de sôro antiofídico, morrendo trinta minutos depois.

N., 67 — ?, português, adulto, constituição fortíssima, morador na fazenda de J. V., em Muzambinho. Acidente ocorrido às 6 horas da tarde. Meia hora depois, cegueira, hemorragia pela bôca, olhos, nariz, etc. Evacuou e urinou sangue. Sôro: 10cc antiofídico, na mesma hora do acidente. Tomou mais 14 tubos do mesmo sôro. Curado. Já havia sido picado, tempos antes, por uma cascavel, sem grande novidade.

N.º 68 — A. P. R., 20 anos de idade, residente na fazenda Santa Ana, cidade de Antônio Dias, picado no pé esquerdo. Inchação e hemorragia. Sôro: 10cc antiofídico. Curado.

N.º 69 — M. D., 30 anos, côr preta, de Barroca, Capital, picada na mão esquerda por uma cobra não venenosa, provàvelmente uma "Liophis". Fenômenos gerais, nenhum. Edema. Tratamento local. Curada.

N.º 70 — S. dos S., 25 anos, fazenda Sta. Adelaide, de propriedade de J. Q. L., morador em Rio Novo, picado no pé por jararaca. Inchação e paralisia. Sôro: 20cc antilachético. Curado.

N.º 71 — Um menor, morador na fazenda de Sta. Adelaide, mordido por jararaca, no calcanhar. Tomou sôro antilachético. Curado.

N.º 72 — 2 cães de raça, de propriedade de J. Q. L., Fazenda Sta. Adelaide, picados por jararaca na cabeça. Inchação, hemorragia e abatimento. Tomaram sôro antilachético. Curados. 21/9/1929.

N.º 73 — "... empreguei em uma cadela perdigueira o sôro que me enviaram, tendo dado ótimo resultado". Trecho da carta do Sr. I. de C., morador em João Aires, em 15 de Outubro de 1929.

N.º 74 — A. V. M., 22 anos, côr branca, doutorando de Medicina, bibliotecário dêste Instituto, picado por uma cobra não venenosa (Thamnodinastes nattereri), na mão direita. Edema que atingia em pouco tôda a mão e antebraço. Dôres pouco acentuadas. Tratamento local: álcool quente. Curado. O edema desapareceu no fim de 3 dias. 11/11/1929.

N.º 75 — Menor, empregado na chácara S. José, de propriedade de L. T., em Soledade (R.V.S.M.), picado por cascavel. Tomou 40cc de sôro anticrotálico. Morte. 20/12/1929.

N.º 76 — J. S. O., 30 anos, picado por jararacussú, no pé direito. Reside o ofendido em União, município de Palmira. Dôres intensas. Sôro: 9 horas após o acidente, 20cc de sôro antilachético. Grande inchação. Resultado: satisfatório.

N.º 77 — P. M., 38 anos, residente em Barra do Paraopéba, picado por cascavel, na perna direita. Tomou sôro anticrotálico. Curado. 3 de Dezembro de 1929.

N.º 78 — J. E. S., 25 anos, côr branca, de Brejo das Almas, picado por cascavel, na face anterior do pé direito. Dôres, dormência. Pouca inchação. Tomou 10cc de sôro anticrotálico. Alta, curado. 31/Janeiro/1930.

N.º 79 — M. F., 35 anos, côr morena, de Brejo das Almas, mordido por cascavel, na face anterior do pé direito. Grande inchação, hemorragia, vômitos, tonteira e dormência quase geral em todos os membros. Tomou 30cc de sôro anticrotálico. Alta, curado. 31/Janeiro/1930.

N.º 80 — A. N., 30 anos, côr morena, de Brejo das Almas, picado no braço, quando dormia, por cobra que não foi identificada, apresentando todos os sintomas de envenenamento ofídico. Tomou 20cc de sôro antiofídico. Alta, curado. 31/1/1930.

N.º 81 — E. S., 17 anos, residente em S. João Evangelista, mordida na face dorsal do pé esquerdo, por uma cobra não identificada. Dôres generalizadas, vômitos alimentares. As dôres perduraram, com intensidade, por espaço de 4 horas. Paresia do membro inferior esquerdo. Edema doloroso do pé, subindo até o joelho.

Nota: — Chamamos a atenção para as observações ns. 63 e 69, pois se tratava de cobras não venenosas, tendo havido, apesar disso, reações locais intensas e duradouras.

M. Alves — Intoxicação grave pela peçonha botrópica (Bothrops jararacussu). Insuficiência da soroterapia específica. Necrose local, extensa e profunda em várias partes do braço direito, principalmente na região do cotovelo. Osteite das extremidades superior do rádio e inferior do úmero, com soldadua óssea consecutiva pela ação da peçonha, inutilizando a articulação do cotovelo direito

Tomou 10cc de sôro antiofídico 6 horas após o acidente, sendo o resultado bom. Alta, curada ao fim do quarto dia.

N.º 82 — Menor, 14 anos de idade, residente em Perdões, mordido por urutú no "dedo do pé ao pé da unha". Tomou o sôro antiofídico 2 horas depois. Alta, curado. 6/4/1930.

N.º 83 — Menina de 15 anos, mordida no peito do pé por urutú, socorrida 2 horas após o acidente. Não teve a menor manifestação de envenenamento. Residente em Cristina. 18/4/1930. Nota: Teria sido B. alternata?

N.º 84 — Menino de 12 anos, mordido por cascavel. Aplicado o 1.º tubo de sôro quando já completamente cégo. Uma hora depois recuperava a vista. Sobreveio grande hemorragia nasal, que cedeu imediatamente à aplicação de mais 1 tubo de sôro. Completamente curado. Residente em Cristina. 18/4/1930.

N.º 85 — ... "2 outros casos mais se deram em pessôas adultas (homens), tendo sido socorridos algumas horas depois, devido à distância em que se achavam da cidade. Um sarou logo e o outro se encontra doente, até hoje. Êste último, soube-o agora, recusou-se a fazer a injeção que lhe foi oferecida, continuando sem assistência médica"... Carta do Dr. G. R. F., residente em Cristina. 18/4/1930.

N.º 86 — F. A., 30 anos, fazenda Tartaria, mordido no pé direito "junto à sola", por urutú *atrox*. Tomou 10cc de sôro antibotrópico 40 minutos depois de mordido, sendo ótimo o resultado do tratamento. Alta, curado. 1/5/1930.

N.º 87 — D. L. B., 13 anos, residente em S. João Evangelista, mordido no 1.º pedartículo esquerdo, face dorsal da 1.ª falange, por cobra "lachesis", provàvelmente jararacussú. Hemorragias profusas. Epistaxes, hematémese, melena. Edema do pé e da perna correspondente, com ligeira reação ganglionar. Nem paralisia, nem cegueira. 33 horas após o acidente tomou 10cc de sôro antibotrópico e mais 10cc de sôro antiofídico 12 horas depois, sendo o resultado do tratamento bom. Medicações: cardiotônicos, hemostáticos, estimulantes gerais, lavagem intestinal e antieméticos, antitérmicos e diuréticos. No 3.º dia sobreveio hipertermia, acompanhada de oliguria. Sintomas que cederam com a medicação usual. Alta, curado. 16/5/1930.

N.º 88 — "... em 1 ano como êste, que cobras perambulavam malfazejas causando-nos algumas perdas de gado e 2 homens foram picados por jararaca, tratados a tempo, estão salvos — isso em abril..." — Trecho da carta do Sr. A. F. C., ao Instituto.

N.º 89 — D. S., pardo, 30 anos, natural de Pindaíba, estação de Conceição Lemos, mordido em 25 de março, na ponta do grande pedartículo esquerdo. Nenhum sintoma. Saiu sangue da ferida. A cobra (?) era rajada, grossa, grande (parece urutú). Amarrou a perna para não se espalhar o veneno. Em 11 de agôsto dêste ano, foi examinado no Instituto, sentia fadigas, não pódia andar muito, sentia "avexame", dôr no ventre, etc. Bócio, taquicardia. Conhecia o "barbeiro", porque havia muitos na própria casa. Reação de Wassermann no sôro sanguíneo (Dr. Magalhães), fracamente positiva. Reação de Machado negativa 12/8/1930. Alta, curado.

N.º 90 — Um homem, 35 anos, mordido no calcanhar por "jararaca preta". Tomou 10cc de sôro, sendo bom o resultado.

N.º 91 — Sexagenário, mordido no peito do pé, pela mesma qualidade de cobra. Tomou sôro. Tratamento bom.

N.º 92 — "... Comunico-lhe que nestes últimos 4 meses apliquei sôro em 5 pessôas ofendidas por cascavel e urutú; todos com ótimo resultado..." (Comunicação feita pela Sra. I. L. da S. T., de Carangola).

N.º 93 — E.C., 29 anos de idade, mordida na perna direita por jararaca, no dia 5 de janeiro de 1931. 17 horas após o acidente tomou 2 empôlas de sôro antibotrópico, sendo o resultado ótimo. — Tratamento feito pelo Dr. L. P. D., de S. José do Paraopéba, Minas.

N.º 94 — C. P., 45 anos de idade, mordido no peito do pé, por cobra desconhecida, no dia 10 de janeiro de 1931. Vômitos, vista escura, pequena hemorragia. Ligeira paralisia do membro. Grande inchação no lugar mordido. 3 horas após tomou 1

empôla de sôro polivalente. Resultado do tratamento, bom. Cessaram os vômitos. Desapareceram todos os fenômenos locais. Tomou 1 injeção. — Tratamento feito pelo Dr. A. E. M., de Chapéu d'Uvas, Minas.

N.º 95 — V. P., 42 anos de idade, mordido no pé esquerdo (dedo), por cascavel, no dia 14 de janeiro de 1931. Cegueira; dormência no pé por uns dias. Inchação. 6 horas depois de mordido tomou 20cc de sôro específico, ficando bom. Tomou mais 10cc de sôro no dia 17 (3 dias depois). Tratamento feito pelo Dr. J. J. de O., de Varginha, MG.

N.º 96 — J. B., de 42 anos de idade, mordido na região maleolar do pé esquerdo, por cobra ignorada, provàvelmente do gênero Bothrops, no dia 24 de janeiro de 1931. Escarros hemoptóicos. Edema acentuado do pé e perna esquerdos. Estado do doente, decorridas 11 horas do acidente: Temp. axilar, 37,4ºC; pulso, 87. Fenômenos congestivos pulmonares; ritmo respiratório normal; dôres intensas no membro ofendido. Reação ganglionar na região inguinal esquerda. (Não houve tratamento anterior ao emprêgo do sôro). Tomou 10cc de sôro antibotrópico. Desapareceram os sintomas mórbidos após a aplicação das injeções. Tratamento feito pelo Dr. W. V., de S. João Evangelista, MG.

N.º 97 — R. Q. da S., com 21 anos de idade, mordido na face dorsal do pé esquerdo (raiz do 5.º pedartículo) por cobra ignorada — provàvelmente do gênero "Lachesis" — no dia 24 de janeiro de 1931. Escarros hemoptóicos. Edema do membro ofendido. Reação ganglionar acentuada no pé e na perna esquerda. Cefaléa intensa. Pulso 108; temperatura axilar 37,4. Respiração normal. Não houve tratamento anterior ao sôro. Tomou 10cc de sôro antibotrópico. Regressão gradual e completa dos sintomas após a aplicação do sôro. Tratamento feito pelo D. W. V., de S. João Evangelista, MG.

N.º 98 — J. L., com 43 anos de idade, mordido no pé direito por cobra não identificada, no dia 30 de janeiro de 1931. Ligeira paralisia. Inchação do pé. Mais ou menos 5 horas depois do acidente, tomou 10cc de sôro antiofídico e 6 horas após declinaram os sintomas. Tratamento feito pelo Dr. J. A. de A., de Penido, Minas.

N.º 99 — M. L. M., com 5 anos de idade, mordido no peito do pé esquerdo, por cobra ignorada, no dia 1 de fevereiro de 1931. Vista escura. Hemorragia. Inchação do pé. 2 horas após o acidente, tomou 10cc de sôro antiofídico, sendo o resultado "perfeito", "muito bom". — Tratamento feito pelo Dr. J. E. M., de Paula Lima, Minas.

N.º 100 — "... Há 8 meses colhi ótimo resultado com um tubo de sôro antiofídico, em M. R. e outro em A. F. F., ambos residentes aqui no Distrito de A. D." — Carta do Dr. A. P., da R. de Antônio Dias, em 12/11/1931.

N.º 101 — R. J. S., com 20 anos de idade, mordido no pé esquerdo por jararaca, no dia 20 de fevereiro de 1931. Hemorragia e inchação do membro ofendido (desapareceu sòmente no fim de oito dias). O paciente foi *benzido*, fêz uso de *tisanas* e no dia imediato, com grande hemorragia, procurou o autor desta observação, que lhe injetou 6cc de sôro antibotrópico, desaparecendo os sintomas de envenenamento. Ótimo resultado. — Tratamento feito pelo Dr. H. P., de Matipó, MG.

N.º 102 — O. M., com 23 anos de idade, morador em Tapera, Lagôa Sêca, cortador de lenha, mordido por cobra ignorada, provàvelmente da espécie "colubridae", na face dorsal do pé direito, junto à articulação tíbio-társica. Vista turva, dôr violenta, que se propagava pelo corpo todo; frio. "Ingua" na virilha. Queimaram a ferida com fósforos. *Benzido* na mesma noite, data do acidente, em 19 de fevereiro de 1931; às 4 horas da tarde, tomou um purgante de sal de Glauber. Pé e perna inchados. Só pôde andar 1 semana depois. Apresentou-se no dia 28 do mesmo mês andando bem, embora apresentando um pouco inchado o pé. Nada mais sentiu, estando perfeitamente bem.

N.º 103 — P. F. S., com 45 anos de idade, mordido por "jararaca" (?) "no pé esquerdo, abaixo do tornozelo", no dia 9 de março de 1931, às 7 horas da noite. "O membro bem fraco, com pouco movimento. Inchação bastante em todo pé e perna e bastante cegueira. A cobra estava num capim perto da casa. Não teve perigo". Tomou 10cc de sôro antibotrópico. — Tratamento feito pelo A. M. de Chapéu d'Uvas, MG.

N.º 104 — A. P. A., com 48 anos de idade, mordido por uma jararaca de "côr amarela", no pé esquerdo, face externa. Inchação do membro ofendido. Pequena hemorragia. Acidente ocorrido em 28 de março de 1931. Tomou, 10 horas depois, 10cc de sôro antibotrópico. Tratamento feito pelo Dr. A. C. M., de Chapéu d'Uvas, MG.

N.º 105 — C. G. S., com 27 anos de idade, servente do Instituto, mordido por "Bothrops atrox" no polegar esquerdo, quando a segurava para extração devida de veneno, no serpentário, às 3,55 da tarde do dia 31 de março de 1931. Dormência imediata. Cefaléia. Pouco movimento do dedo. Quando entrou para o serviço, acusava uma dôr — reumatismo — no braço, que desapareceu logo após a picada da cobra. Extremidades dos dedos frias. Calor pelo braço. Suór na mão; ingua. Tomou 20cc de sôro antibotrópico, às 4 horas da tarde. (No dia 31 de março, às 8 e meia da noite, foi examinado pelo Dr. Octávio Magalhães). Vomitou bastante, uma substância amarela e estrias com sangue. Pulso, 96; temperatura axilar 37,3. A dôr na mão e braço era fortíssima. Não se podia levantar. A ferida ainda sangrava. Urinou e evacuou regularmente. Sentia dôr fôrte na cabeça. A mão e o antebraço (1/3 inferior) estavam demasiado dolorosos. No dia 1 de Abril não sentia mais nada. Mão e antebraço fortemente edemaciados. Injetadas mais 2 empôlas (20cc) via subcutânea de sóro antiofídico. Dia 6 de Abril, apresentava o estado geral: pulso: 90; temperatura 37; edemaciados mão e braço; dedo doloroso; ferroadas nos dedos, às vêzes nas costas e braços. No dia 10 de Abril, apresentou-se no Instituto. Nada mais sentia. A mão não estava mais inchada. Apenas, do dedo, escorria pus. Curativos locais.

N.º 106 — "... Junto um conhecimento relativo ao despacho de um magnífico "urutú cruzeiro", tão belo quanto perigoso. Um similar fulminou ontem uma filha do fazendeiro J. R., com 16 anos de idade. Não pude aplicar o sôro que nos mandaram, dada a rápida propagação do veneno, resultando na morte imediata da vítima". Carta do Dr. J. V. N., ao Dr. A. N., em Abril de 1931.

N.º 107 — J. T., com 38 anos de idade, mordido no pé esquerdo por jararaca, no dia 11 de Abril de 1931. Apresentou sòmente a inchação do membro ofendido. 30 minutos após o acidente, tomou 10cc de sôro antibotrópico. Ótimo resultado. — Tratamento feito na St. Farmácia. M. P. G., de S. J. de M., MG.

N.º 108 — A. B., com 21 anos de idade, mordido no pé direito (altura do dedo mínimo), por jararaca, no dia 28 de abril de 1931. Inchação no lugar. 4 horas após o acidente, tomou 10cc de sôro antiofídico, sendo o resultado do tratamento bom. — Tratamento feito pelo Dr. O. S., Fazenda da Catatiata, MG.

N.º 109 — "... Envio-lhe uma cobra para ser aí classificada, pois a mesma mordeu a uma pessôa aqui na Fazenda, produzindo intensíssima ação local, isto é, grandes dôres. Aliás, não passou disto, talvez devido à rápida aplicação do sôro..." — Carta do Dr. C. M. S., de Ponte Nova, MG, em 15/5/1931.

N.º 110 — S. L. C., casado, com 24 anos de idade, empregado de leiteria e trabalha como engraxate; de côr parda, morador à R. Pouso Alegre, Floresta, Belo Horizonte. Mordido por uma cascavel, às 4,50 da tarde, mais ou menos, do dia 19 de maio de 1931, na Av. Amazonas com R. Tupís, na face externa da extremidade proximal do polegar da mão direita. O lugar ofendido apresentava-se edemaciado, com uma pequena zona de eritema em redor. Escorreu bastante sangue. Sentia dôr local, tremura do braço. Não tinha vista escura, não urinou nem defecou; não salivou nem sentiu tonteira. Tratou-se numa farmácia próxima, aplicando amoníaco e bebeu um cálice de paratí, logo após. Pulso: 94 por minuto. Temperatura deixou de ser tomada por falta de termômetro. Aparêlhos respiratório e circulatório, nada de anormal. Foram-lhe administrados, por via subcutânea, 20cc de sôro anticrotálico. O paciente foi mordido pela cobra quando a trazia para o Instituto, em uma caixa; esta caiu e êle tentou segurar a cobra que fugia, pela extremidade caudal, sendo então ofendido. No dia 22, apresentava ainda alguns sintomas: vista turva, tonteira, grande inchação pelo braço e menor na mão. Dôr provocada. Pulso rítmico, normal. Temperatura 37,4ºC. Aparêlhos circulatório e respiratório, nada de anormal. — Observação feita pelo doutorando A. H., em 22/5/1931. Alta, curado.

N.ò 111 — "... Tenho tratado êste ano de 5 casos de mordeduras de cobra. A esta hora me chegou a notícia de um vizinho que faleceu por falta de tratamento; com subida estima me subscrevo, de V. S...." — Carta de A. P. R., de Antônio Dias, em 28/5/1931.

N.º 112 — F. T. V., soldado do 6.º Batalhão, casado, 32 anos de idade, preto. Quando apanhava "vassouras" num mato perto do quartel do 1.º Batalhão, foi picado por uma cobra, cuja espécie não pude precisar, no dia 24/5/1931. Examinado no Instituto, às 4,30, não apresentava edema no lugar da picada. Dôr em todo o membro direito, tremor do mesmo, impossibilidade de movê-lo, a vista muito escura, pulso normal, 90 por minuto. Não teve extrasístoles, ligeira hiperfonése do 1.º tom, temperatura 36,3º. Foram injetados 20cc de sôro antiofídico, na espádua direita. Pouco depois acusou grande melhora nas dôres do membro ofendido e meia hora após já mostrava grandes melhoras da visão, desaparecimento completo das dôres no braço, que já se movia facilmente. Observação pelo Dr. A. V. M., em 24 de maio de 1931.

N.º 113 — J. B. F., com 25 anos de idade, mordido por cascavel, na região dorsal do pé direito, no dia 3 de setembro de 1931. Houve cegueira, nada mais apresentando. 8 horas após o acidente, tomou 60cc de sôro anticrotálico, 30cc via intravenosa e 30cc intramuscular. Resultado: ótimo. 4 dias depois o doente ainda apresentava uma leve cegueira e fortes dôres renais. Foram feitos mais 20cc de sôro anticrotálico, 10cc intravenosos e 10cc intramuscular, tendo desaparecido tudo. O doente acha-se completamente bom. — Tratamento feito pelo Dr. E. A., de Careassú, MG.

N.º 114 — J.C., com 28 anos de idade, mordido por cascavel na região maleolar do pé direito, no dia 5 de outubro de 1931, tendo havido cegueira muito breve. Pequena paralisia antes da primeira injeção. 20 minutos depois do acidente, tomou 40cc de sôro (intramuscular). Resultado: ótimo. — Tratamento feito pelo E. A. de Careassú, MG.

N.º 115 — J. E. O., 27 anos de idade, mordido por jararacussú, "de 1 metro de comprimento", no tornozelo do pé esquerdo e no dedo mínimo da mão direita, no dia 6 de outubro de 1931. Houve cegueira, que desapareceu 2 horas após o tratamento. Hemorragia no dedo, desaparecida também no fim de 2 horas após o tratamento. Pequena inchação no lugar picado. 3 e meia horas mais ou menos, após o acidente, tomou 10cc de sôro antiofídico. Melhoras acentuadas ao cabo de 2 horas. — Tratamento feito pelo Dr. A. P. R., de Antônio Dias, MG.

N.º 116 — "... V. S. Exma. não sabe como estou entusiasta do sôro contra Ophidismo. No dia 6 de outubro deste tive ocasião de empregar uma ampola na pessôa de meu Am.º Sr. J. E. O., que se achava em estado grave, mordido por 1 jararacussú, no pé direito e mão esquerda. Envio-lhes hoje mais uma jararaca; êstes dias, morreu, aqui a 10 quilômetros, um indivíduo filho de J. B., ofendido por uma jararaca, por falta do miraculoso sôro. Senti não ter ocasião de empregar o sôro..." — Carta do Dr. A. P. R., de Antônio Dias, em 12/10/1931.

N.º 117 — "... A cobra que segue na caixa mordeu uma cachorra, curada pelo sôro específico". — Dr. A. F. A. S., de Barra do Paraopéba, MG, em 7/12/1931.

N.º 118 — "Estando em S. Francisco (defronte ao Sertão de Urucuia), fui chamado para atender a uma senhora, J.R.L., casada, com 23 anos de idade, que amamentava um filhinho pequeno, mordida por um cascavel (C. terrificus terrificus), havia já muitas horas, na perna. Não havia sôro. Amarraram a perna acima da picada, sugaram a ferida, dando muito sangue. A cobra foi morta e, 24 horas depois, morria a paciente, tendo apresentado os sintomas clássicos do envenenamento crotálico". Careta de L. Pereira doutorando de Medicina: R. D.ª Mariana, 177, do DF.

N.º 119 — M. S. F., brasileiro, casado, 41 anos de idade, côr branca, trabalhador de roça, residente em Lagôa Santa, picado por cascavel, em 12/1/1932, mais ou menos às 8 horas da noite. Dôres violentas, mão inchada, braço dolorido, axila idem, sem íngua. Bebeu álcool com fumo. Dormiu bem a noite. Hoje teve tonteiras, algum abatimento. Pulso, 82, arrítmico. Não tem febre. Mão dormente. Picado na face interna do 2.º dedo da mão esquerda Examinado, em

13/1/1932, às 2 horas da tarde. Tomou 20cc de sôro anticrotálico. Voltou no dia seguinte. Alta, curado. Observação de E. B.

N.º 120 — R. V., 28 anos de idade, mordido no pé por cobra que desconhece. 8 horas depois tomou 2 ampolas de sôro antiofídico sendo o resultado satisfatório. Hemorragia, cegueira e paralisia. Não houve inchação. Acidente ocorrido, em 15/1/1932. — Tratamento feito pelo Dr. J. R. P., de Lima Ruarte, MG.

N.º 121 — "... Com referência a uma menina de 4 e meio anos de idade, filha de Joaquim Ignácio (meu vizinho) fiquei um pouco perturbado, não sabendo se poderia injetar-lhe 10cc de sôro; na hora em que tirei os pacotes de sôro entendi que levaria com certeza ao menos um sôro antiofídico, mas os segundos eram antibotrópicos; tive um pouco de receio de aplicar mas não tinha outro recurso (devido a idade da criança). Verifiquei ser jararaca (2 dentadas). Preparei a seringa com calma e no mais vi que o sôro só teve a debater com veneno e o resultado foi surpreendente. Graças ao sôro..." — Carta do Sr. A. P. P., de Antônio Dias, MG.

N.º 122 — "... Tenho a satisfação de informar-vos que tendo aplicado uma injeção em um homem picado por uma "Lachesis atrox" e apresentando sintomas de completo envenenamento salvou-se, sentindo depois de poucos dias efeito algum da picada. Êstes benéficos efeitos foram também observados numa rez picada por uma L. atrox, à qual se aplicou o sôro..." — Carta do Sr. A. M., em 12/1/1932.

N.º 123 — V. C. R., 25 anos, mordido no "pé sôbre o tornozelo do lado esquerdo", por jararacussú "com 5 palmos de comprimento", no dia 8 de fevereiro de 1932, às 8 e meia da manhã. Dôres na perna, ligeira paralisia, grande inchação no lugar ofendido. Tomou 30cc de sôro antibotrópico. Resultado ótimo. — Tratamento feito pelo Sr. D. G. M. J., Fazenda das Amoreiras, MG.

N.º 124 — M. V. P., 30 anos, mordido no dedo anular da mão esquerda, por jararacussú, no dia 19 de fevereiro de 1932. Inchação no lugar mordido. 2 horas após o acidente, tomou 10cc de sôro antibotrópico, sendo o resultado do tratamento ótimo. — Tratamento feito pelo Sr. S. P., de Furquim de Mariana, MG.

N.º 125 — N. G. O., mordido no dedo indicador da mão esquerda, por jararacussú, em 16/11/1932. Pequena hemorragia. Grande inchação na mão esquerda. Temperatura 36,5.º. Tomou, 19 horas após, 20cc de sôro. Alta, curado. — Tratamento por H. B., B. Hte.

N.º 126 — F. R. C., com 38 anos de idade, mordida no pé esquerdo, por cobra ignorada. Hemorragia, paralisia e inchação no lugar mordido. Acidente ocorrido, em 7/3/1932. 20cc de sôro antibotrópico. Resultado ótimo. — Tratamento feito pelo Sr. J. M. A. J., de Extrema, MG.

N.º 127 — L. J. M., 22 anos, mordido no pé direito por cobra desconhecida, em 2 de abril de 1932. 10cc de sôro antiofídico. Resultado ótimo. — Tratamento feito pelo Sr. J. M. A. J., de Extrema, MG.

N.º 128 — M. C. J., 25 anos de idade, mordida no pé direito, por "Lachesis neuwiedii", em 28 de março de 1932. Fenômeno local intenso. 20cc de sôro antibotrópico. Tratamento de resultado ótimo. — Tratamento pelo Sr. J. M. A. J., de Extrema, MG.

N.º 129 — "... Esta semana empreguei 4 tubos em dois acidentados com ótimos resultados..." — Trecho de carta do Sr. G. R. F., de Cristina, MG, em 18/3/1932.

N.º 130 — J. T. J., com 50 anos de idade, mordido na região palmar do 3.º dedo da mão esquerda, às 4 horas da tarde de 11 e abril de 1932, por cascavel Ligeira hemorragia e inchação. Sente fortes dôres no lugar picado, que invadem todo o dedo; tem a impressão de que o dedo ofendido está sob a ação de forte queimadura. Cinco minutos depois do acidente, tomou 50cc de sôro anticrotálico. Alta, curado, a 17 de abril. — Tratamento feito pelo Dr. O. Magalhães, Belo Horizonte.

N.º 131 — J. P., de 25 anos, mordido no dorso do pé esquerdo, por uma cobra que o paciente supõe ser cascavel. Sentiu uma dôr no pé, que subiu até à barriga

da perna. Vomitou e urinou depois da picada. Tomou 10cc de sôro polivalente. Nada mais sentiu. — Tratamento feito pelo Dr. A. Hermeto, B. Horizonte.

N.º 132 — "... Há mais ou menos 1 mês apliquei uma injeção antibotrópica em meu empregado, com máximo resultado, que enviei ao Instituto do Rio de Janeiro. O rapaz foi ofendido e dentro de meia hora aplicou-se-lhe a injeção contra jararacussú, colhendo-se ótimo resultado, tendo havido cegueira momentânea e hemorragia interna, etc..." — Carta do Sr. J. F. S., de Barra do Paroapéba, ao Instituto, em 14/4/1932.

N.º 133 — Um leitão de 6 meses, mordido no focinho por cascavel, em 2 de maio de 1932. O animal cambaleava a ponto de não se levantar. Cegueira. Paralisia. 8 horas após, tomou o sôro anticrotálico. Curado — Tratamento pelo Sr. J. R., de Lima Duarte.

N.º 134 — J. F. S., 19 anos de idade, mordido no pé por jararacussú, em 20/5/1932. Hemorragia, paralisia, grande inchação no lugar mordido. Vômitos e escarros abundantes. 30 horas depois, tomou o sôro antiofídico, sendo que a "injeção foi dada na veia, pelo estado grave". Curado. — Tratamento pelo Sr. G. L. F., de Dôres do ndaiá, MG.

N.º 135 — J. M., de 20 anos, mordido no pé direito por cascavel, em 21/5/1932. "Houve hemorragia pela bôca, vômitos sangrentos, e paralisia na perna, do lado ofendido". — 10cc de sôro anticrotálico, 2 horas depois, "apresentou melhoras". — Tratamento pelo Sr. G. L. F., de Dôres do Indaiá, MG.

N.º 136 — D. J .F., com 50 anos de idade, mordido no pé esquerdo por urutú, em 6/5/1932. "Antes do tratamento horrível dor no lugar da mordedura e calor no pé, vertígem e pouca febre, a inchação durou dias". Tomou 10cc de sôro antiofídico e 8 horas após apresentava melhoras. — Tratamento pelo Sr. G. L. F., de Dôres do Indaiá, MG.

N.º 137 — P. V. V., brasileiro, casado, 40 anos de idade, morador à Fazenda de St.ª Cruz, adiante de Capela Nova, picado em 8/6/1932 ao meio dia, quando capinava um canavial, por uma cascavel, na face posterior do antebraço direito. Sentiu fortes dôres, que diz até hoje ainda caminharem pelo corpo todo. Diz ter tido febre e 7 dias depois diz ter passado mal. Acusou cegueira no dia seguinte, isto é, a vista escurecendo às vêzes, estando sempre amarela. Examinado dez dias depois, nada apresenta o local picado. Diz ainda sentir dôres por todo o corpo, não podendo trabalhar por escurecer-lhe a vista e por sentir taquicardia, assim como tonteiras. Pulso 70; temperatura 36,4. Logo depois de picado bebeu cachaça e benzeram-lhe o braço. Tomou 20cc de sôro anticrotálico. Observação por E. F. B., 18/6/1932.

N.º 138 —"... Pois aqui foram 2 pessôas ofendidas por cascaveis que morreram imediatamente, havendo uma usado duas injeções de sôro e outra seis..." — Carta do Sr. J. V., de Muzambinho, MG.

N.º 139 — "A. S. S., 23 anos, mordido na região maleolar externa da perna esquerda, por jararaca (?). Hemorragia interna. Muita dor local, ainda agora a inchação na perna tôda. Estado geral bom. Aplicou, no local, fumo picado e cachaça. Há manchas arroxeadas pela perna e coxa e no local da picada". Tomou 2 empôlas de sôros antiofídico e antibotrópico, uma de cada um. Curado. — Tratamento pelo Sr. Dr. O. Magalhães, Belo Horizonte, após a chegada.

N.º 140 — J. P. D., residente em St.ª Quitéria, com 27 anos de idade, mordido na perna direita por cascavel, em 18/7/1932. A cascavel não picou fundo. Êle sentiu, ao passar o pé pela beira do animal, um ardor na perna e viu na moita uma cascavel. Edema. pequeno. Ingua. Mal estar geral. Não tomou sôro. Curado.

N.º 141 — M. R., 17 anos, mordida na "barriga da perna" direita por urutú "cruzeiro", em 6/11/1932. "Houve bastante cegueira e vômitos amiudados, ensanguentados, sangue vivo, paralisia e inchação pequena". 10cc de sôro antiofídico. Melhora acentuada. — Tratamento feito pelo Sr. G. L .P., Dêres do Indaiá, MG.

N.º 142 — E. S., residente em S. João do Matipó, mordido no pé por jararaca (?). Bastante hemorragia, inchação em todo o pé. Tomou 5cc de sôro antibotrópico, 72 horas depois ao acidente, ocorrido em 10/11/1932.

N.º 143 — F. J., com 50 anos de idade, mordido por jararaca no "pé direito abaixo do tornozelo". Paralisia na perna e braço. 1 tubo de sôro (?). Resultado ótimo. — Tratamento pelo Sr. J. S., de Careassú, MG.

N.º 144 — S. T. R., 29 anos, mordido no pé direito por cobra ignorada, em 14/11/1932. Apresentava sintomas gerais de envenenamento ofídico. Tomou 30cc de sôro antiofídico, de resultado ótimo. — Tratamento pelo Sr. J. M. A. J., de Extrema, MG.

N.º 145 — 2 meninas, de 6 e 10 anos, respectivamente, mordidas nas mãos, pela mesma cobra ("Lachesis atrox"). Os braços incharam até os ombros. Tomaram sôro antiofídico e depois antibotrópico. Acidente ocorrido, em 29/11/1932. — Tratamento pelo Sr. F. A. S., de Barra do Paraopéba, MG. — Aîta, curadas.

N.º 146 — Cachorro novo, mordido na cabeça por cobra ignorada, em 16/13/1932. Inchação grande no lugar mordido. "Alguma pouca hemorragia". — Tomou o sôro antiofídico. Curado. — Tratamento pelo Sr. A. F. A. S., de Barra do Paraopéba, MG.

N.º 147 — J. S., com 23 anos de idade, mordido no dedo médio do pé esquerdo, por cascavel, em 22/12/1932, às 8 horas da manhão. Tomou 30cc de sôro anticrotálico. Curado.

N.º 148 — G. C., mordido no pé, em 26 de dezembro de 1932, por Bothrops atrox. Grande inchação no lugar mordido. Tratamento de ótimo resultado. — Foi feito pelo Sr. A. F. A., de Brasília, MG.

N.º 149 — J. D. C., 54 anos, mordido no pé direito por urutú, em 2/2/1932, em Entre Rios, distrito Bom Jardim, MG. Ficou com a vista embaçada. Grande hemorragia. Queimou o local e amarrou a perna. Foi mordido há 30 e poucos anos, por uma cobra (urutú), quase no mesmo local (maléolo interno). Há 2 anos foi picado por outra urutú. Da segunda vez ficou de cama. Vomitou sangue. A perna inchou. Teve dôr nos intestinos, diarréia sanguínea, febre e frio. Ficou "perrengue", sem trabalhar, durante 2 mêses. Voltou ao Instituto por estar com uma úlcera. Foi feita reação de Wassermann, sendo o resultado positivo. Instituído o tratamento específico, curou-se completamente.

N.º 150 — J. B., Fazenda Ladislau, mordido por urutú, às 10,30 do dia 25/2/1939. Tomou 3 injeções de sôro do Institituto Biológico Ezequiel Dias, às 12 horas do mesmo dia, tendo sido bom o resultado. Não houve cegueira ou paralisia. Teve hemorragia pelos dentes e inchação no lugar ofendido. — Observação remetida por L. P. R., de Ibituruna, MG.

N.º 151 — A. F., 51 anos de idade. Mordido na Fazenda do Vale Formoso, por uma jararaca, no dia 8 de agôsto de 1938. Tomou 15cc de sôro antibotrópico no Instituto Biológico Ezequiel Dias, 26 horas após o acidente. Melhorou bastante após a segunda injeção. Não houve cegueira nem paralisia. Teve hemorragia pelas gengivas e inchação no lugar mordido. — Observação do Sr. Antônio R. Tondolla, de Sobragí, MG.

N.º 152 — 4 reses, picadas por cascavel, urutú e mais duas outras cobras que não foram vistas, em março e agôsto de 1928. Observação de 24 de setembro de 1938. Às 2 primeiras reses foi aplicado o sôro poucas horas após a mordida e às outras, muitas horas depois. Cada uma recebeu 1 empôla. Uma rês adulta e 1 bezerra salvaram-se e as outras duas morreram. 3 tiveram cegueira. As que se salvaram mudaram o pêlo em quase todo o corpo, algum tempo depois. Não houve hemorragia nem paralisia, tendo havido pouca inchação no lugar mordido. — Observação do Sr. Álvaro Ferreira, de Campos Prado, MG.

N.º 153 — G. C., 23 anos de idade, mordido por uma jararaca amarela, na Fazenda de Sebastião Laurindo, distrito de Santa Luzia, município de Colatina, EX. tomou 1 empôla de sôro antibotrópico multivalente do Instituto Ezequiel Dias, 6 horas após o acidente, tendo sido ótimo o resultado do tratamento. Houve hemorragia e bastante inchação no lugar mordido. Não houve cegueira nem paralisia. O acidente ocorreu no dia 7 de novembro de 1938. 1 hora após a apli-

cação do sôro cessou a dôr de cabeça, dôr no corpo, tendo o paciente jantado com apetite. — Observação pelo Sr. S. M.

N.º 154 — F. C. S., brasileiro, com 35 anos de idade, lavrador, de côr parda, não vacinado, residente em Taquarussú (Sta. Luzia). Admitido no Instituto de Radium a 14 de dezembro de 1938, às 8 horas. Informou ter sido mordido por uma cobra (B. jararacussú), no dorso do pé direito, havia 20 dias mais ou menos. Algumas horas depois, a perna direita tornou-se edemaciada, notando-se hiperemia muito acentuada. No momento da internação apresentava coloração roxo-azulada da coxa direita, com ligeira descamação da epiderme. Notou-se ainda a presença de edema e escaras ao nível das regiões sacra, glútea, articulações dos cotovelos esquerdo e direito, articulação metacarpo-falangeana esquerda, (segundo metacarpeano com o dedo indicador). Na face anterior do hemitorax direito, observou-se a presença de um edema difuso. Estado geral mal, apresentando um facies angustioso, pulso fraco e rápido, ligeira disartria e obnubilação mais ou menos acentuada. Durante o período pre-operatório tentou-se uma transfusão sanguínea, o que não se conseguiu pela falta do grupo apropriado. Foi-lhe administrado sôro glicosado isotônico, mais ou menos 1.250cc por dia, juntamente com sôro glicosado hipertônico, 40cc por dia. A intervenção cirúrgica constou de uma amputação plana ao nível do terço inferior da coxa. Foi feita a narcose por meio do Evipan-sódico. O paciente faleceu três horas após a intervenção.

N.º 155 — A. O. M. S., brasileiro, de 21 anos de idade, residente em S. Domingos do Prata, MG. Picado na glande do penis, ao defecar, de cócoras, no mato. O aparêlho genital do paciente tornou-se com rapidez surpreendente, inchado, atingindo êste estado os escrotos. Ofendido por uma jararaca de côr cinza, às 4 horas da tarde de 15 de maio de 1940. Tomou 3 empôlas de sôro, iniciando-se a dose 6 horas após o acidente. Não houve cegueira, mas houve hemorragia no local da picada e pela saliva do paciente, tendo havido também paralisia, a qual cessou à 1.ª injeção. Tratamento feito pelo Cel. Manoel Olympio de Magalhães, com ótimo resultado, sendo que a recuperação do paciente foi total. "... nesta zona se desconhece outro fato a este semelhante, com sintomas de envenenamento tão rápidos e alarmantes e efeito benéfico salvador tão rápido de sôro. Abaixo da vontade divina foi o sôro antiofídico do Inst. Ezequiel Dias que arrancou das garras da morte certa, Antônio Magalhães, que se sentia já morrendo..."

N.º 156 — P. da C., de 49 anos de idade, residente em Serra, Belo Horizonte, mordida no calcanhar direito por cobra ignorada. Iniciou o tratamento 6 horas após o acidente, tendo tomado sôro antibotrópico (20cc) e anticrotálico (20cc) na veia, tendo havido cegueira parcial e inchação no lugar mordido. Não houve hemorragia nem paralisia. O resultado do tratamento foi ótimo. Tratamento feito pelo Dr. Oswino Penna Sobrinho. 20/4/1940.

N.º 157 — F. J. B. V., de 49 anos de idade, residente em Bom Sucesso, MG, picado na perna por jararacussú, tendo havido inchação no lugar mordido. Não houve cegueira, nem hemorragia ou paralisia, tendo o paciente iniciado o tratamento 2 horas após o acidente, com 5 empôlas de sôro antibotrópico. O acidente ocorreu a 24 de novembro de 1940, e o resultado do tratamento foi bom. — Tratamento feito pelo Dr. João Teixeira de Miranda.

N.º 158 — A. A., residente em Carangola, MG, com 30 anos de idade, mordido no peito do pé por jararaca, a 14 de março de 1940. Tomou 10cc de sôro antibotrópico, 3 e meia horas após o acidente, tendo havido inchação no lugar ofendido. Não houve cegueira nem hemorragia ou paralisia. 11 dias após a picada, o pé ainda continuava inchado, duro, com imobilidade no tornozelo e doloroso à palpação. O resultado do tratamento foi bom. — Tratamento feito pelo Sr. Ignácio L. S. Thomé.

N.º 159 — J. C. S., residente em Neves, MG, de 43 anos de idade, mordido no pé esquerdo por uma urutú. Tomou 10cc (18 miligr.) de sôro multivalente, 9 horas após o acidente, com resultado bom. Houve ligeira cegueira, hemorragia apenas local, inchação no lugar picado. Não houve paralisia. — Tratamento feito pelo farmacêutico José Bonfim, por ordem do Dr. Ary Teixeira. 20/3/1940.

N.º 160 — M. P., de 60 anos de idade, residente em João Alves, MG, picada no pé por urutú. Tomou 1 ampôla de sôro 12 horas após o acidente, com bom resultado. Houve muita inchação no lugar mordido e paralisia. Não houve hemorragia nem cegueira. Antes do tratamento, a paciente sentia-se mal, sendo que, após a pr meira injeção, sarou. A aplicação do sôro foi feita na perna. Tratamento feito pelo Sr. PRUDENTE CARVALHO DE ARAÚJO.

N.º 161 — C. C., de 10 anos de idade, residente em São José do Paraopéba, MG, mordida nas costas, entre as espáduas, no mesmo local onde aplicaram as injeções. Ofendida por cascavel tendo tomado 4 ampolas de sôro anticrotálico 4 horas após o acidente. O resultado do tratamento foi ótimo, tendo havido hemorragia e paralisia. Não houve cegueira nem inchação. O acidente ocorreu, em 10 de março de 1940. O estado da menina era desanimador e só ficou completamente restabelecida com 4 empôlas de 10cc cada um, do sôro anticrotálico. — Observação e tratamento feitos pelo Sr. ANTÔNIO ELYSEU PEREIRA CAMPOS.

N.º 162 — Nota: — Esta última observação será citada em um tipo de Boletim para observações de acidentes ofídicos, adotado pelo Instituto Biológico Ezequiel Dias:

INSTITUTO BIOLÓGICO EZEQUIEL DIAS

Caixa Postal, 26 — Belo Horizonte

BOLETIM PARA OBSERVAÇÕES DE ACCIDENTES OPHIDICOS

Tratamento feito pelo Sr. — GENESIO SOARES
Residente em — MONTE VERDE — *Estado de* — RIO
Na pessoa de — AMELIA CASTILHO — *De* — 10 ANOS
Mordido na — PÉ DIREITO

1.º — *Qual o nome da cobra que mordeu?*
R. JARACARA
2.º — *Qual o número de horas decorridas entre a hora em que se deu o acidente e a da 1.ª injeção?*
R. 3 HORAS
3.º — *Qual a quantidade e qualidade do sôro empregado?*
R. 1 AMPOLA DE 10cc
4.º — *Qual o resultado do tratamento?*
R. BOM, "ÓTIMO"
5.º — *Houve cegueira?*
R. NÃO
6.º — *Houve hemorragia?*
R. NÃO
7.º — *Houve paralisia?*
R. NÃO
8.º — *Houve inchação no lugar mordido?*
R. SIM
9.º — *Em que data ocorreu o acidente?*
R. 2 DE JANEIRO DE 1940

OBSERVAÇÕES: "Não repare ser enchido a lapis pois no momento não tinha tinta".

N. B. — *No caso de ter sido aplicado em animal façam-se as alterações necessárias.*

O Diretor do Instituto desejando colher elementos para a organização da estatística dos accidentes ophidicos tratados pelo sôro ,pede às pessôas que tiverem oportunidade de aplicar este tratamento, o obsequio de encher este boletim, devolvendo-o em sguida ao Instituto.

OCTÁVIO MAGALHÃES
Diretor-Geral

CONCLUSÕES

A maioria das observações aqui compendiadas, foi feita por pessoas leigas ou de cultura rudimentar, havendo, todavia, uma certa uniformidade nas respostas e dados que pódem ser perfeitamente apurados.

Algumas observações são interessantes pelo relato das perturbações locais; outras, pelos fenômenos gerais. É evidente que as primeiras que se limitaram a lesões restringidas ou foram provocadas por ofídios não práticamente venenosos ou por venenosos que inocularam quantidade mínima de tóxico. Estas, curaram-se, muitas com simples remédios caseiros, inclusive benzeduras. Sabe-se, porém, que as doses submortais de tóxico provocam sofrimento, às vêzes acentuado, mas não matam, com qualquer terapêutica ou sem terapêutica alguma. Seja como for, pode-se concluir que a soroterapia específica foi o único tratamento racional de efeito seguro, quando empregado em tempo e em quantidades ótimas, em Minas Gerais.

É claro que não se podem esperar milagres da soroterapia, mas em muitas observações o que se verifica é que mesmo o emprêgo tardio do sôro póde remover lesões que pareciam definitivas, haja em vista o que publicamos com as observações das intoxicações pelo veneno do Crotalus terrificus terrificus.

Pelos nossos Relatórios ao Govêrno de Minas e ao Diretor do Instituto Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro, de 1922 a 1940 poderíamos também ter estabelecido um mapa, não apenas para os ofídios venenosos, como o que está junto a êste trabalho, senão que, também para os ofídios não peçonhentos, o que seria de interêsse geral para o conhecimento da distribuição geográfica, no Estado de Minas Gerais. Veríamos, então, a distribuição do D. bifossatus e da Xenodon merremii, por exemplo, o que teria, com respeito à zoogeografia, um interêsse que não seria para se desprezar.

RESUMO

O A. descreve as fases da campanha antiofídica em Minas Gerais (1918 a 1940). Registra as seguintes espécies de ofídios venenosos encontrados:

Bothrops cotiara
Bothrops alternata
Bothrops atrox
Bothrops neuwiedii
Bothrops jararaca
Bothrops inaequalis
Bothrops jararacussú
Crotalus terrificus terrificus
Lachesis mutus
Micrurus lemniscatus
Micrurus frontalis
Micrurus corallinus corallinus

e numerosas espécies não venenosas, fazendo um mapa para a distribuição geográfica dos ofídios venenosos em Minas Gerais. Apurou que dominam no Estado as espécies do gênero *Bothrops* e não do gênero *Crotalus*. Registrou diferenças morfológicas, principalmente de tamanho dos *Crotalus terrificus terrificus* do Norte do Estado e do Centro e Sul. Relata 2 casos de alergia, de certa gravidade, pelo veneno ofídico, líquido ou sêco, curando-se os pacientes pelo afastamento dos trabalhos da seção antiofídica do Instituto Ezequiel Dias. Registra, ainda, 22 anos de trabalhos, numerosas observações pelas picadas de ofídios venenosos e não venenosos, sendo que estas últimas, em gravidade. Das 980 primeiras observações, 921 foram de acidentes humanos e, destas, 531 tomaram sôro, com a mortalidade de 1,30%; 390 não tomaram sôro e tiveram mortalidade variável, conforme a dose, a época do emprêgo do sôro e a espécie do ofídio, entre 7,6 e 100% dos casos, sendo a média geral de 33%. Nenhum acidentado pela *Lachesis mutus* se salvou.

SUMMARY

The author describes the phases of the antiophidian campaign in Minas Gerais (1918 to 1940). He registers the following species of poisonous snakes found:

Bothrops cotiara
Bothrops alternata
Bothrops atrox
Bothrops neuwiedii
Bothrops jararaca
Bothrops inaequalis
Bothrops jararacussú
Crotalus terrificus terrificus
Lachesis mutus
Micrurus lemniscatus
Micrurus frontalis
Micrurus corallinus

and numerous species not poisonous, making a map for the geographical distribution of the poisonous snakes in Minas Gerais. He verified that the species of the genus *Bothorops* and not of the genus *Crotalus*, predominate in the State. He registers morphologic differences principally in size of the *Crotalus terrificus terrificus* of the North of the State and of the Centre and South. He relates two cases of a cerain gravity of persons allergic to ophidian poison, liquid or dry; they were cured by being removed from the work of the snakes department of the Instituto Ezequiel Dias. He also registers, in 22 years of work numerous observations on the bites of poisonous and nonpoisonous snakes, the latter without gravity. Of the first 984 observations were of human cases and of these 531 took serum with a mortality rate varying from 7,6 to 100% of the cases, according to the period and the kind of snakes; the general average death rate being 33%. No case of Lachesis mutus recovered.

BIBLIOGRAFIA

AMARAL, Afrânio — A general consideration of snake poisoning and observations on neotropical pit-vipers — Contributions from the Warword Institute for Tropical Biology and Medicine, II: 34-35, 1925.

AMARAL, Afrânio — Synonymia Neotropical — Mem. Inst. Butantan, Vol. IV: 3-68, 1929.

AMARAL, Afrânio — Contribuição ao Conhecimento dos Ophidios do Brasil. Lista Remissiva dos Ophidios do Brasil — Mem. Inst. Butantan, T. 4-6: 87-162, 1929-1931.

AMARAL, Afrânio — Campanha Antiofídica — Mem. Inst. Butantan, T. 4-6: 195-232, 1929.1931.

AMARAL, Afrânio — Estudos sôbre Ophidios Neotropicos. Lista Remissiva dos Ophidios da Região Neotropica — Mem. Inst. Butantan, IV: 129.217, 1929.1931.

BARROS, Evandro da Fonseca — A Classificação da Lachesis inaequalis Magalhães 1922 — Anais da Fac. de Medicina da U. M. G., 1930.

BARROS, Evandro da Fonseca — Contribuição ao conhecimento da Hypersensibilidade ao Veneno Ophidico — Brasil-Médico, 243 (12), Março de 1936.

BARROS, Evandro da Fonseca — Hypersensibilidade ao Veneno de Marimbondos — Brasil-Médico, (8): 298, Fevereiro de 1937.

BOQUET, P. — Venins de Serpents et Antivenins — Éditions Médicales Flammarion, 1947.

BOULANGER, G. H. — Catalogue of Snakes in the British Museum — Vol. III: 541, 1896.

BRAZIL, Vital — La défense contre l'ophidisme — 1914. Pocai e Weiss.

BRAZIL, Vital — Do Envenenamento Elapino em Confronto com o Choque Anafilatico — Vol. Inst. Vital Brazil, 1933.

CALMETTE, A. — Les Venins. Les Animaux Venimeux et la Serothérapie antivenimeuse — Masson et Cie. Ed., 1907.

FONSECA, Flávio — Animais Peçonhentos — Empr. Gráf. da Rev. dos Tribunais Ltda., S. Paulo, 1949.

GOMES, Breno F. — Oftalmoplegia externa por veneno crotálico — Ophtalmos, III (2), 187-194, 1943.

GRAISÉ, Pierre C. — Traité de Zoologie, T. I a XII — Masson et Cie. Ed., Paris, 1953.

KRAUS, Rodolpho D. — Noções Gerais sôbre Cobras — Instituto Sorotherapico Butantan — Cia. Melhoramentos Ed. 1923.

LEITÃO, C. de Mello — Zoo-Geografia do Brasil — Cia. Ed. Nacional, S. Paulo, 1937.

MAALC, O. — La Estandardizacion de Antivenenos de Serpiente — Bol. Of. Sanit. Panamericana, XLIII (1): 77-91, 1957.

MAGALHÃES, Octávio de — Contribuição para o Estudo dos Ofídios Brasileiros — Mem. Inst. Osw. Cruz, XVIII (I), 1925.

MAGALHÃES, Octávio de — Hemiplegia orgânica provocada pelo veneno ofídico. Sciencia Médica, 3 (4): 3-8, 1925.

MAGALHÃES, Octávio de — Ensaios — Tipogr. da Fac. de Direito da U. M.G. — Belo Horizonte, 1957.

MAGALHÃES, Octávio de — (18) Relatórios aos Secretários da Agricultura e da Educação do Estado de Minas Gerais, de 1922 a 1940.

MAGALHÃES, Octávio de — Contribuição ao Conhecimento das Lesões Provocadas pela Peçonha do Bothrops jararacussú (Lacerda) — Anais Fac. Med. U. M. G., II, V, IV: 80-95, 1945.

Magalhães, Octávio de — Escorpionismo. Monografia n.º 3 — Inst. Osw. Cruz — Imprensa Nacional, Julho de 1946.

Magalhães, Octávio de — Combate ao Escorpionismo — Brasil-Médico, (29-30): 429-432, Julho 1952.

Magalhães, Octávio de — Escorpionismo — Rev. Brasil de Medicina, XI (6): 404-410, Junho 1954.

Magalhães, Octávio de —J Escorpionismo. Emprêgo do Dieldrin no combate aos Escorpiões — Resenha Clínico-Científica, XXIV (7): 3-7, Julho 1955.

Melo Campos, Oswaldo — Comentários sôbre 96 observações de Acidentes Ophidicos — Sciencia Médica, III (1): 31, 1925.

Pena Sobrinho, Oswino — Anaveneno e o seu Valor na Produção de Sôros Antiofídicos — Brasil-Médico, (25-26): 272-273, 1943.

Phisalix, Marie — Animaux Venineux et Venins — Masson et Cie. Ed., 2 cols., Paris, 1932.

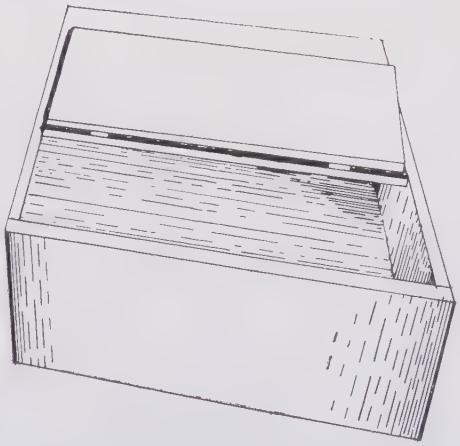
Raymond L. Ditmars, Ltda. D. — Snakes of the World — The Mac Millan Co., N. York, 1951.

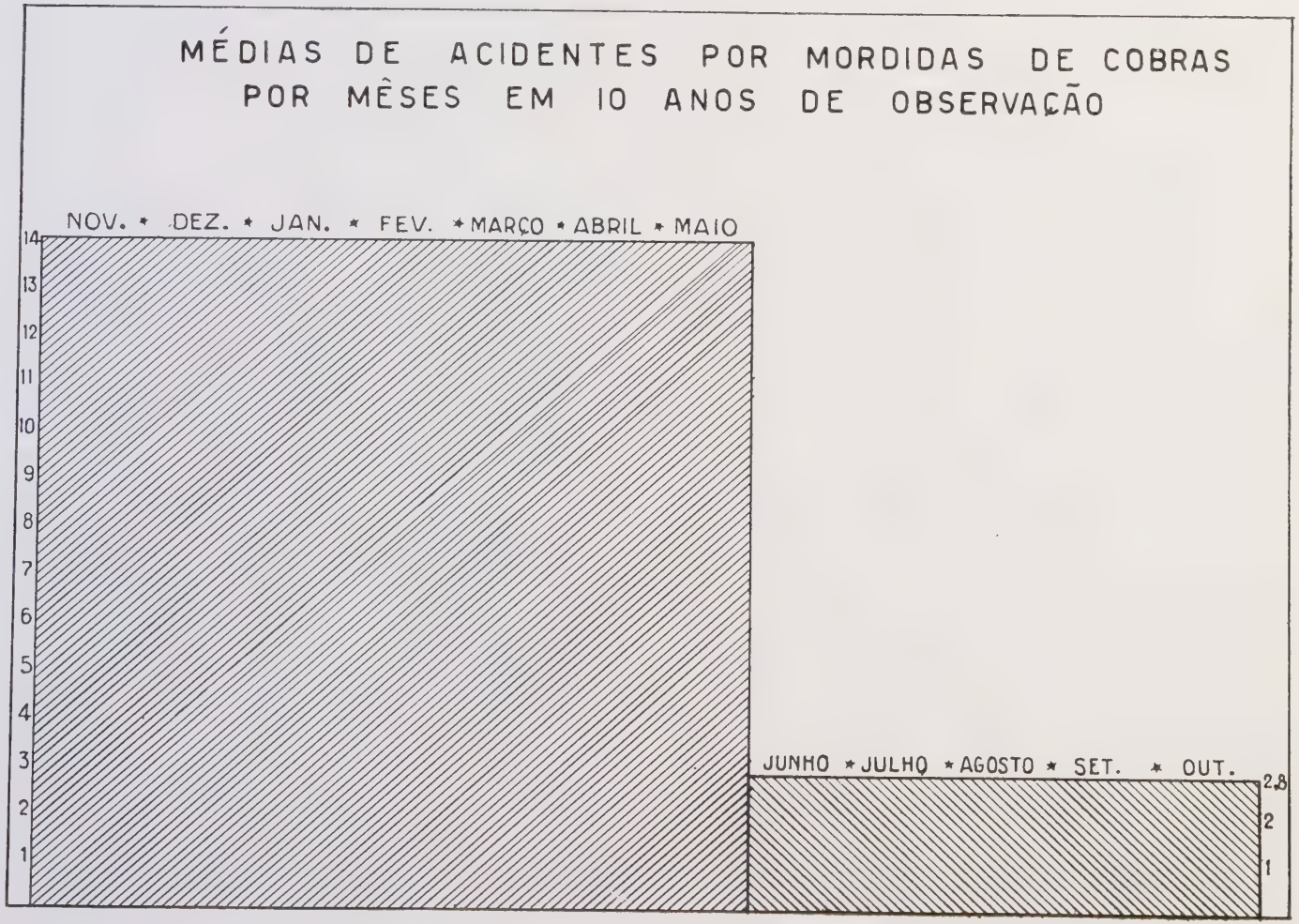
Silva Júnior, Marcelo — Ofidismo no Brasil — Serv. Nac. de Ed. Sanitária, Minist. da Saúde, Rio de Janeiro, 1956.

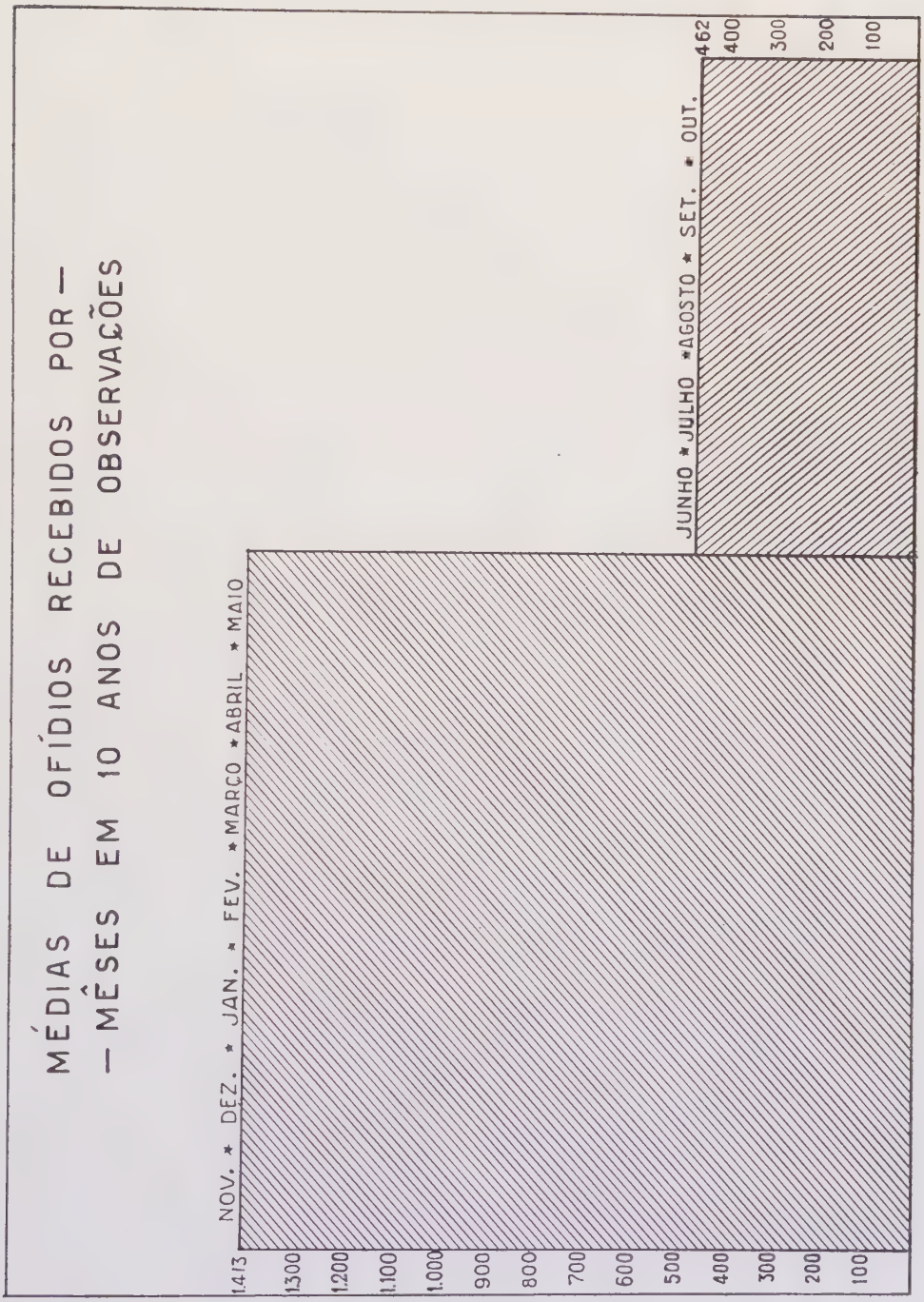
LAÇOS PARA CAPTURA DE SERPENTES

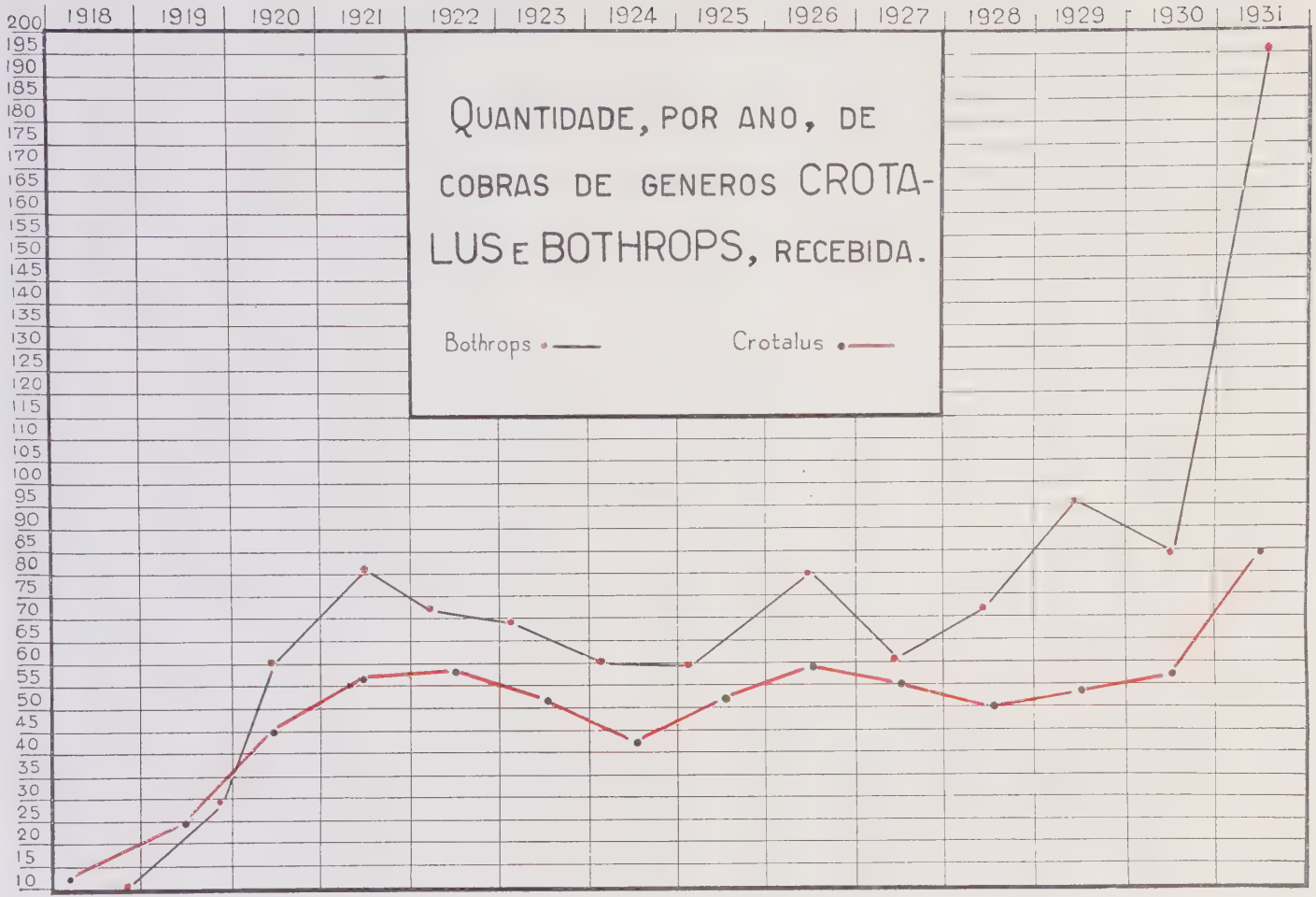
GANCHO

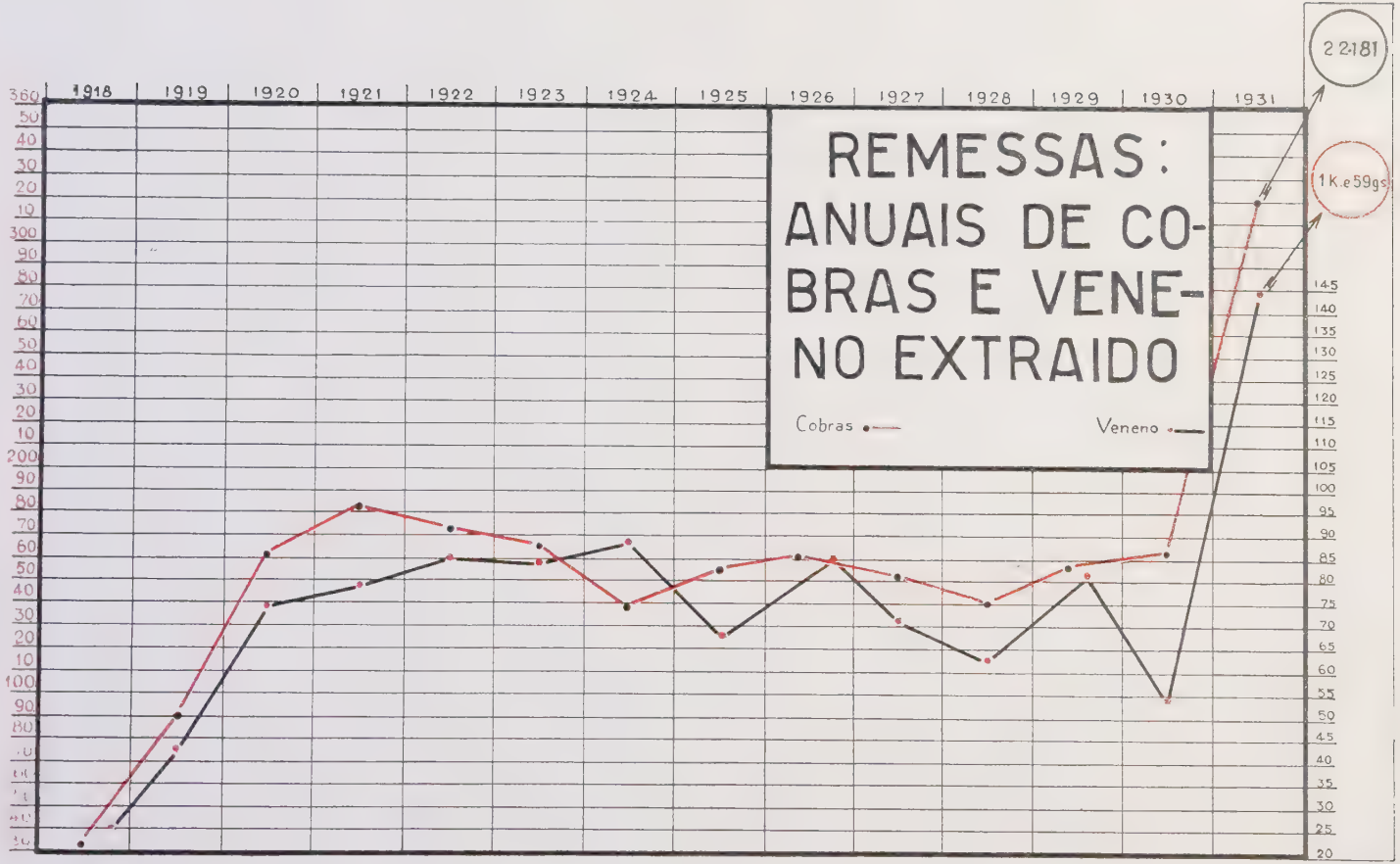
CAIXA PARA TRANSPORTE




MÉDIAS DE ACIDENTES POR MORDIDAS DE COBRAS
POR MÊSES EM 10 ANOS DE OBSERVAÇÃO
NOV. * DEZ. * JAN. * FEV. * MARÇO * ABRIL * MAIO
JUNHO * JULHO * AGOSTO * SET. * OUT.
14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
2,8
2
1


MÉDIAS DE OFÍDIOS RECEBIDOS POR —
— MÊSES EM 10 ANOS DE OBSERVAÇÕES
1413
NOV. * DEZ. * JAN. * FEV. * MARÇO * ABRIL * MAIO
JUNHO * JULHO * AGOSTO * SET. * OUT.
462
1300
1200
1100
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
400
300
200
100


QUANTIDADE, POR ANO, DE COBRAS DE GENEROS CROTALUS E BOTHROPS, RECEBIDA.
Bothrops
Crotalus
1918
1919
1920
1921
1922
1923
1924
1925
1926
1927
1928
1929
1930
1931
200
195
190
185
180
175
170
165
160
155
150
145
140
135
130
125
120
115
110
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10


REMESSAS:
ANUAIS DE CO-
BRAS E VENE-
NO EXTRAIDO
Cobras
Veneno
1918
1919
1920
1921
1922
1923
1924
1925
1926
1927
1928
1929
1930
1931
2 2:181
1 K.e 59gs

Anfíbios novos e raros das Serras Costeiras do Brasil

(New or rare frogs from the Coastal Ranges of Brazil

Eleutherodactylus venancioi n.sp., E. hoehnei n.sp. Holoaden bradei n.sp. e H. lüderwaldti Mir. Rib., 1920

Bertha Lutz
Museu Nacional

(Com 3 Estampas e 3 Figuras e 2 Gráficos no Texto)

O trabalho de campo nas serras vizinhas do nosso litoral continua a render anfíbios novos ou raros. Aos já versados em publicações anteriores, acrescentamos as quatro espécies que formam o assunto do presente trabalho.

Duas delas, ambas novas, pertencem ao gênero *Eleutherodactylus*, não só pelo seu hábitat e sua morfologia como também pelos caracteres osteológicos, verificados em exemplares diafanisados pelo meu ilustre colega Sr. Antenor Leitão de Carvalho e estudados por ambos os herpetólogos do Museu Nacional. Diferem das outras espécies do gênero pertencentes à fauna regional apenas pelo porte lanceolado e esguio e pelos discos mais curtos e mais largos de alguns dos dedos. As fêmeas da espécie menor continham um certo número de ovos macrolecitais, característicos do gênero, cujo desenvolvimento é embrionário, sem fase larval. É interessante notar que, em duas delas, só os ovários direitos eram perceptíveis externamente.

As outras duas espécies aqui versadas se filiam ao gênero *Holoaden* criado, em 1920, pelo nosso eminente predecessor, Professor Alipio de Miranda Ribeiro. Trata-se do genótipo, *H. lüderwaldti*, que continua a ser raríssimo, e de *H. bradei* nov. sp., que é muito abundante na localidade-tipo e parece endêmico no Alto Itatiaia.

* Recebido para publicação em 7-5-1958.

6 — 26 292

I — Eleutherodactylus venancioi n. sp.

(Est. I figs. 1-6)

Diagnose diferencial. Tamanho pequeno. Fêmeas, 25-26 mm. Machos, em média, 18 mm. Porte delgado, lanceolado. Perna relativamente curta. Discos do 3.º e 4.º dedos da mão muito curtos e largos, bilobados, e, em espécimes bons, chanfrados. Discos dos dedos médios do pé também curtos e largos, embora menos do que os da mão. Dois padrões dorsais: um em forma de tapeçaria complexa, (figs. 2, 4, 5) o outro constituído por estrias longitudinais (figs. 1, 3, 6); em ambos, uma linha vertebral clara. Colorido tons de beige (pale buff Ridgway, 1912) às vêzes mais escuro; manchas côr de laranja, rodeadas de malhas escuras, nas partes da coxa ocultas em repouso. Setor médio-superior da iris, verde claro a verde azulado, o resto padronisado com a área sub-cantal escura. Canto: *crrrr*. Terrestre e bromelícola. Noturno e serrano.

Localidade-tipo e tipos. Serra dos Órgãos, Teresópolis, E. do Rio. Lat. 22º26'; Long. 42º58' O. Greenwich; alt. 800-1 000 m.

Sessenta e seis exemplares: 6 cótipos fêmeas, 60 paratipos machos ou de sexo não verificado, de 17 a 23, em média, 18 mm. Espécime menor 14,5 mm.

Descrição. (Seis cótipos fêmeas). Tamanho: 26 mm. (5 exs.) a 25 (1 ex.), da ponta do focinho ao ânus. Porte delgado, alongado, rectilíneo entre o ôlho e o sacro, salvo onde os ovos grandes dilatam o abdome; adelgaçado em direção do focinho e da região inguinal. Cabeça ligeiramente mais longa que larga, plana; focinho, visto de cima em triângulo rombo; ligeiramente declive em perfil. Canto rostral distinto, loras relativamente elevadas, verticais, côncavas em frente do ôlho, expandindo-se apenas na proximidade da abertura oral. Narinas sub-cantais, muito próximas da ponta do focinho. Ôlho grande, em vida saliente acima do espaço interorbital muito estreito; maior diâmetro ocular igual a três quartos da distância entre o canto anterior do ôlho e a ponta do focinho. Espaço interorbital pouco mais largo que a pálpebra superior. Tímpano muito pequeno, aproximadamente um terço do diâmetro ocular, visível mas incluso na estria sub-cantal escura. Rictus oral muito alongado, estreito em frente. Uma saliência pequena, em forma de dente, no centro da mandíbula, encaixando-se numa pequena cavidade correspondente da maxila. Dentes maxilares presentes. Dentes vomerinos em dois grupos oblíquos, entre, mas por trás, das coanas. Língua oval, larga, ligeiramente chanfrada, extensamente livre atrás. Dedos da mão livres; discos muito curtos e largos, truncados, emarginados ou bilobados, especialmente largos no terceiro e quarto dedos, um pouco menos no segundo, estreito no primeiro dedo, que é muito curto. Tubérculos palmares indistintos, tubérculos subarticulares regulares. Membro posterior curto para um *Eleutherodactylus;* levado à frente, a articulação tibio-

tarsal fica entre o ôlho e o focinho. Fêmur ligeiramente mais curto que a tíbia, ultrapassando os calcanhares um ao outro quando a coxa e a perna são colocadas paralelas entre si e perpendiculares ao corpo. Dedos do pé fimbriados; discos dos três internos um tanto dilatados, especialmente do terceiro e quarto, mas não tanto como nos dedos da mão; mais estreito no segundo, estreito no quinto e especialmente no primeiro dedo. Planta lisa, com tubérculo metatarsal interno alongado e externo curto, redondo. Pele ligeiramente chagrém com algumas pústulas na pálpebra superior.

DIMENSÕES DOS COTIPOS FÊMEAS (mm.):

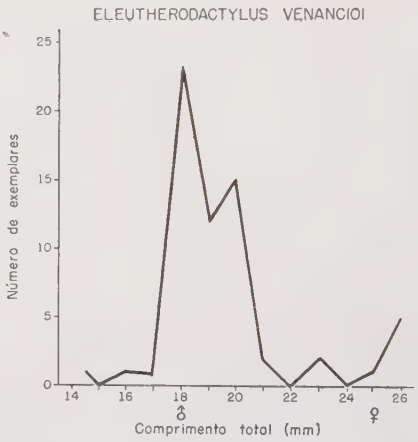
DIMENSIONS FEMALE COTYPES (in mm.):

	1	2	3	4	5	6
	Nov. 1953	Fev. 1955		Março 1945	Jan. 1957 Comary	
Focinho-Ânus: Snout to Vent:	26	26	26	25	26	26
Membro posterior: Hindlimb:	41	42	40	40	43	41
Cabeça, comprimento: Head, length:	9	10	9	9	-10	9
Cabeça, largura: Head, width:	7	8	7+	8	-9	7
Ôlho: Eye:	3	3	2.5	3	3	3
Ôlho — ponta do focinho: Eye to tip of Snout:	4	4	4	4	4	4
Espaço interorbital: Interorbital space:	2.5	2.5	2.5	3	3	2
Pálpebra superior: Upper eyelid:	2	2	2	2.5	2	2
Femur:	11	10	11	11	12	11
Tibia:	12	12	12	12	13	12
Tarsus-Pes (foot):	18	20	17	17	18	18

MÉDIAS (mm). Focinho-ânus 25-26. Perna 39-40. Cabeça, comprimento 9-10, largura 7-8, ôlho-ponta-focinho 4, espaço interorbital 2.5-3, pálpebra superior 2, tímpano 1.

Os nossos machos e espécimes cujo sexo não se determinou variam de 14,5, o menor, até o maior, que alcança 23 mm. Dos outros, medidos, 29 tinham 19 mm de comprimento total; 12 tinham 19; 14, 20, havendo um de 16 e um de 17 mm. O comprimento médio do membro posterior é de 29 a 30, atingindo em alguns 31 a 32, sendo mui raramente mais longo, mas não ultrapassando 28, 27 ou 26 em alguns. O comprimento médio da cabeça, é de 7, ocasionalmente de 6 ou de 5; a largura 6, ocasionalmente 5.5 ou mesmo 5. O ôlho tem geralmente 2 mm., o tímpano 1 mm. de diâmetro.

Variação. Em muitos dos parátipos a língua é mais estreita e oval, ora chanfrada, ora inteira; em alguns dos parátipos os tubérculos subarticulares são muito nítidos. Braço mais fino que o antebraço. A articulação tibio-tarsal de alguns espécimes atinge apenas o ôlho, ou seu canto anterior.



Padrão. Conforme acontece em certos outros *Eleutherodactylus*, existem duas librés dorsais; é possível que sejam dominante e recessiva; nos espécimes coletados ao acaso, "random sample", foram encontradas na proporção de 43 a 21, com 2 espécimes desprovidos de padrão. A primeira parece uma tapeçaria formada de figuras complexas, dispostas em redor da linha vertebral estreita e de dois pares de pontos glandulares escuros, o primeiro par ao nível da escápula e o segundo na proximidade do sacro; as figuras são constituídas por manchas concêntricas, confluentes, irregulares, de diferentes matizes, geralmente com debrum contrastante. Este libré, corresponde ao que Cott (1941) chama de disruptiva e coincidente, abrangendo tanto a face dorsal da cabeça e tronco como a parte dorsal visível dos membros; nos lados da cabeça, no antebraço e na perna torna-se estriada e oblíqua; na parte da coxa oculta em repouso é substituida por uma rêde escura delimitando manchas de côr viva (fig. 5), sendo tanto as malhas como as manchas muito variáveis em tamanho e extensão; em alguns espécimes extendem-se a parte interna da perna (tíbia). Uma estria escura subcantal passa sôbre as narinas e continua por trás dos ôlhos, abrangendo quase todo o tímpano, para morrer antes de atingir o ombro. A face ventral é clara com traços cinzentos indistintos, especialmente na gula e na coxa.

Na outra libré, que talvez seja recessiva, as figuras são substituidas por faixas longitudinais, de diversos matizes, dispostas de ambos os lados da linha vertebral presente (figs. 1, 3, 6).

Este padrão está sujeito a certa variação. Em uma das cótipos (março 1945), as faixas são completamente regulares e se estendem sôbre tôda a face dorsal do corpo; em outra (nov. 1953) estão fragmentadas em dois segmentos longitudinais, sôbre fundo relativamente escuro.

Ambos os padrões desbotam após a morte. Em alguns espécimes as faixas mais escuras são as segundas a partir da linha vertebral.

AMOSTRA "RANDOM"

Tapeçaria	43 espécimes	inclusive 4 cotipos fêmeas
P. longitudinal	21 espécimes	inclusive 2 cotipos fêmeas
Padrão indistinto	2 espécimes	—

Colorido. O colorido geral é composto de matizes de amarelo e laranja, misturados em proporções diversas e mais ou menos temperados pelo cinza neutro. A grande maioria dos indivíduos é pálida, apresentando diversos tons de beige, ou camurça, as vêzes mais escuro, ou mesmo com uma tonalidade vinácea ou côr de canela (Ridgway, 1912). Os espécimes mais escuros podem ir da côr de barro aos marrons canela, "cinnamon browns", ou mesmo aos pardos oliváceos e "umber-browns" (Ridgway).

As manchas vivas vão do laranja puro e saturado ao amarelo forte i.e. "orange chrome", "cadmium orange" e "mars yellow" (Ridgway 1912). A parte média-superior da iris, acima da faixa subcantal, tem um brilho metálico, verde claro ou azulado, concordando o resto do ôlho, escuro, com a estria subcantal. A côr do segmento claro vai de "pale yellow green" a 'viridine" e quando vista com lente, mesmo ao 'beryl blue" de Ridgway.

Ovos. Uma fêmea adulta examinada continha em cada ovário, 5 ovos macrolecíticos, com 3 mm. de diâmetro, sem os envólucros, além de outros muito pequenos.

Dados ecológicos. Esta espécie vem sendo coletada há vários anos. Todos os exemplares provém da Serra dos Órgãos e foram apanhados numa área que compreende parte do Parque Nacional da Serra dos Órgãos e da Granja Comari (800-1.000 m.), assim como os barrancos da estrada entre as duas propriedades. Aparecem ao anoitecer, e cantam sentados nas folhas das bromeliáceas do solo ou em outra vegetação baixa. Em noites chuvosas de verão congregam nas folhas dos *Agapanthus umbellatus,* plantados nas margens do Lago dos Penitentes, acima da Cachoeira Feroz, na Granja Comari.

Afinidades. *E. venancioi* difere dos outros *Eleutherodactylus* regionais. O padrão é muito semelhante ao de *E. hoehnei* descrito a seguir, mas há uma grande diferença de tamanho e de comprimento rela-

tivo do membro posterior. *E. venancioi* ocorre em parte mais setentrional da Serra do Mar.

Em tamanho, aproxima-se apenas da outra espécie pequena *E. parvus* Girard. Esta é porém de porte robusto, com cabeça larga, tronco curto e discos pequenos, um pouco pontudos. O padrão e o colorido são completamente diversos. *E. parvus* ocorre em Teresópolis, mas não é abundante; parece ter uma distribuição bastante ampla. A sua postura é feita no solo e os adultos nunca foram encontrados em gravatás.

Nome específico. *Eleutherodactylus venancioi* é dedicado ao saudoso Joaquim Venancio, que durante muitos anos serviu ao Professor Lutz e sua filha e à ciência com cortezia, inteligência e dedicação. Este naturalista, nato, merece o tributo de uma espécie mais vistosa, quando tal aparecer; no intervalo, oferecemos à sua memória este anfíbio gracioso, cujos primeiros exemplares ajudou a coletar.

Eleutherodactylus hoehnei n. sp.

(Est. II, 1-4; figs. 1-3 no texto)

Uma nova espécie de *Eleutherodactylus*, da Serra de Paranapiacaba, antiga Serra de Cubatão, entre a capital do Estado de São Paulo e o mar, a 24° aproximadamente de latitude, 46° de longitude O. Greenwich e a 800 m. de altitude.

Tipo e parátipos. Ao todo, 13 espécimes, o tipo, 5 parátipos menores e sete juvenis muito pequenos. O tipo e dois parátipos pertencem a Coleção Adolpho Lutz do Instituto Oswaldo Cruz (IOC. ns. 2 525, 2 526, 3 376), os outros espécimes à Coleção Herpetológica do Departamento de Zoologia do Estado de São Paulo (DZSP. ns. 11.000, 11.064; 10.201-206 mais 10.177 e 10.178) e foram gentilmente comunicados pelo colega Dr. P. Vanzolini para estudo; os últimos sete foram coletados no km 47 da antiga estrada de São Paulo a Santos, por Souza Brandão, em março de 1942. O tipo e todos os outros espécimes proveem da Estação Biológica do Alto da Serra, atualmente E. B. Paranapiacaba; aqueles pertencentes ao DZSP. foram coletados por Vanzolini e W. Bokermann.

Caracteres diagnósticos. *Eleutherodactylus hoehnei* é caracterizado pelo porte esguio, lanceolado, tamanho grande, pernas, mãos e pés compridos e pelo padrão da faces dorsal e lateral. Os discos de alguns dos dedos são muito curtos e largos na parte distal, parecendo truncados em alguns espécimes e emarginados, ou bilobados, em outros. A parte terminal da últitma falange, em forma de "T", tem a parte horizontal muito larga nesses dedos mas ou outros caracteres osteológicos concordam com os das outras espécies do gênero. O tipo tem 46 mm. e os parátipos de 27 a 33 mm.

Afinidades. *E. hoehnei* e *E. venancioi* formam um grupo regional de formas lanceoladas, com estria escura larga dos lados e padrão de tapeçaria na face dorsal. *E. venancioi* é porém muito pequeno (fêmeas adultas 25-26 mm., machos em média 18) e tem pernas relativamente curtas. À primeira vista *E. hoehnei* apresenta certa semelhança superficial, mormente de colorido e tamanho, com *E. binotatus* Spix, mas o último tem o primeiro dedo da mão muito mais longo que o segundo; o porte é robusto, com cabeça, tronco e membro posterior relativamente curtos; os detalhes do padrão são diversos.

Descrição do tipo. N.º 2 525 da Coleção Adolpho Lutz do Instituto Oswaldo Cruz. (Est. II, fig. 1). Tamanho grande, 46 mm. da ponta do focinho ao ânus. (♀ ?). Membro posterior 98 mm. Porte delgado, lanceolado, mais largo entre o ôlho e o ombro, estreitando-se em direção do focinho e da região inguinal. Cabeça mais longa que larga, alongada, triangular; ponta do focinho quase romba de cima; declive, curvo e algo proeminente em perfil. Canto rostral nítido, loras altas, ligeiramente côncavas entre os olhos e as narinas. Ôlho saliênte sôbre o espaço interorbital, ligeiramente mais curto que a distância entre o seu canto anterior e a ponta do focinho. Espaço interorbital ligeiramente mais largo que a pálpebra superior. Narinas subcantais, distintas, situadas na área subcantal escura e larga. Rictus oral muito alongado, estreito em frente, e ligeiramente emarginado; um processo pequeno, dentiforme, na mandíbula, encaixável em pequena cavidade correspondente da maxila. Dentes maxilares presentes. Vomerinos situados bem atrás das coanas, em duas séries oblíquas convergindo posteriormente. Língua larga, oval, chanfrada, extensamente livre atrás. Mão grande; dedos longos, livres; ordem de crescimento 1 2 4 3. Discos curtos, distalmente alargados no terceiro e quarto dedos, menos no segundo; estreito e redondo no primeiro; um tubérculo palmar alongado em baixo do primeiro dedo, um outro, menos definido, e dividido, em baixo do terceiro e quarto; alguns outros tubérculos palmares pouco nítidos, tubérculos subarticulares nítidos. Membro posterior muito longo, com o dobro do comprimento do corpo; levado à frente, a articulação tibiotarsal ultrapassa bastante a ponta do focinho. Fêmur mais curto que a tíbia, ultrapassando os calcanhares, de muito, um ao outro, quando os dois segmentos são colocados paralelos entre si e perpendiculares ao corpo. Dedos do pé com fímbria estreita e rudimento de membrana na base. Discos curtos, alargados em frente no terceiro e quarto dedo, embora menores que na mão, mais estreitos no segundo e quinto, redondo no primeiro dedo que é muito curto. Um tubérculo metatarsal interno, alongado e outro externo, menor. Uma prega glandular no antebraço, até o cotovelo, e no tarso até o calcanhar. Pele lisa, finamente chegrem na face dorsal, com algumas pústulas disseminadas pela pálpebra superior, antebraço, canto da bôca e lados do corpo. Face ventral lisa, salvo a parte mediana inferior da coxa. Disco ventral?

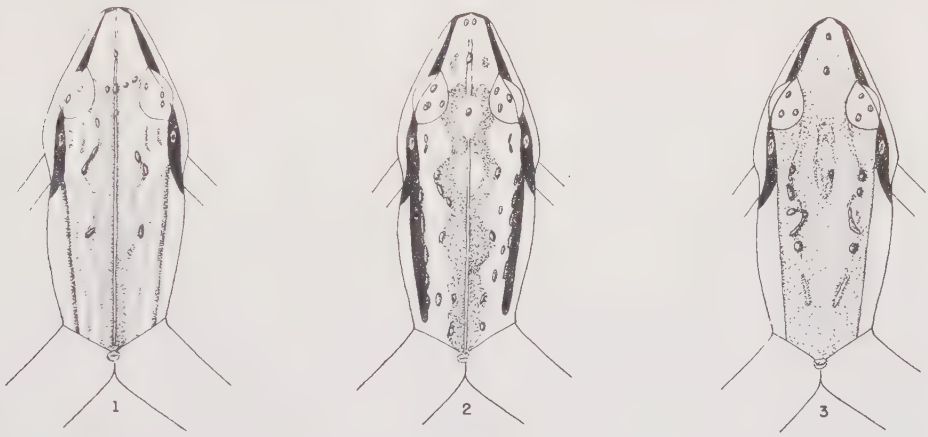
DIMENSÕES (em mm.)

	Coleção Adolpho Lutz			D.Z.S.P.		
	TIPO	PARATIPOS				
	2 525	2 526	3 376	10 201	10 202	11 000
Ponta do Focinho-Ânus: Snout to Vent:	46	28	30	33	27	30
Membro posterior: Hindlimb:	98	59	65	62	58	62
Cabeça, comprimento: Head, length:	16	9	10	13	11	13
Cabeça, largura: Head, width:	13	6	8	9	8	9
Ôlho: Eye:	5	3	3	4	3	3
Ôlho - ponta do focinho: Eye to tip of Snout:	8	5	5	6	5	6
Espaço interorbital: Interorbital space:	4	3	—	2,5	2,5	3
Tímpano: Tympanum:	2	1	1.5	1	1	1
Femur:	25	14	21	16	15	16
Tíbia:	30	18	19	19	17	19
Tarsus:	15	9	25	10	9	10
Pes:	28	18		17	16	17

Quatro dos juvenís têm 16 mm. de comprimento; os outros, respectivamente, 13, 13 e 14 mm. O membro posterior tem mais ou menos o dobro do comprimento do corpo, como nos adultos.

Colorido. Não foi visto vivo. Em álcool apresenta tons de beige, marron e côr de marfim. Face dorsal em diferentes matizes de beige. Uma linha vertebral clara, indistinta, da ponta do focinho ao ânus. Padrão central muito pouco nítido, aproximadamente em forma de clepsidra, mas angular, podendo também ser interpretado como uma série de três losangos sucessivos, mais escuros, ligeiramente deformados no meio, esvaindo-se em frente e estreitando-se irregularmente para trás; em redor dessa figura uma área um pouco mais clara, delimitada por duas linhas dorso-laterais apagadas. Um par de pontos escuros nas maiores larguras do desenho central, isto é, na altura dos ombros e do sacro; um ponto similar na fronte. Nos membros o padrão torna-se oblíquo, cobrindo até os dedos. A área da coxa que permanece oculta em repouso

apresenta pequeninos pontos claros, provavelmente de côr viva antes da morte. Uma estria lateral marron escura, brilhante, começa na ponta do focinho, cobre as narinas e o tímpano, deflete-se na altura dos ombros e esvai-se na dos cotovelos. Algumas manchas ornamentais escuras nos lados da cabeça, em baixo dos ôlhos, na maxila e nos lados do corpo. Um debrum escuro muito apagado em redor da mandíbula e do bordo externo inferior do antebraço, da perna e do tarso. Face ventral, com manchas ligeiramente vermiculares, desbotadas, compostas de melanóforos miudos na gula, parte anterior da barriga e média-inferior da coxas. Parte média superior da iris argêntea. Membrana nictitante com debrum escuro.



Eleutherodactylus hoehnei n.sp. — Variação de padrão; del.: A. L. de Carvalho

Variação. As variações são insignificantes na nossa série pequena de espécimes. Em dois dos parátipos o espaço interorbital não é mais largo que a pálpebra superior; um tem a língua menos livre atrás; dois apresentam pregas no peito; um deles e mais outro dão a impressão de um disco ventral. Os dentes vomerinos dos jovens são muito indistintos mas os discos perfeitamente típicos.

A principal diferença entre os parátipos maiores reside nos detalhes do desenho dorsal. Em um deles (DZSP. 10.201) a parte anterior da figura central forma dois ramos dicótomos, com debrum claro, que divergem inicialmente mas convergem em frente, ao passo que atrás são contíguos e confluentes. Em outro (10.202) a área média apresenta duas fenestrações mais claras, uma em frente da outra. O n.º 11.000 tem pontos glandulares escuros a mais, dois deles muito juntos entre os ôlhos e um duplo em frente destes. A face ventral de todos, salvo um dos juvenís, é mais pigmentada que no tipo. O padrão dos juvenís parece mais claramente formado de três losangos, ponta a ponta, esvaindo-se o da frente ou terminando na região interocular (fig. 1-3) e tornando-se o de trás irregularmente triangular ou permanecendo largo e espatulado. Os claros pequenos na parte oculta da coxa estão delimitados.

Habitat. Infelizmente, esta espécie ainda não foi coletada por nós. O tipo e 1 parátipo foram enviados, ao Dr. Lutz, em abril de 1934, pelo eminente botânico Dr. F. C. Hoehne, então diretor da Estação Biológica, ao qual dedicamos a espécie. O parátipo 3.376, diafanisado para fins osteológicos, foi doado pelo Sr. e Sra. Racine e Mulford B. Foster, que coletam bromeliaceas. Os parátipos do DZSP oriundos da antiga estrada foram apanhados numa clareira. Esta circunstância se coaduna com os hábitos da espécie pequena, afin, *E. venancioi,* que gosta de barrancos, jardins e bromélias, nos bordos da mata pluvial.

Holoaden Mir. Rib., 1920

O gênero *Holoaden* destaca-se nìtidamente dos outros gêneros de anfíbios regionais. É muito raro, tanto assim que até agora só o tenho encontrado, conservado, na Coleção do Departamento de Zoologia do Estado de São Paulo, e vivo, no Alto Itatiaia, onde foram coletados os primeiros exemplares do Museu Nacional. Com a descoberta de *Holoaden bradei* mihi, o gênero passa a incluir duas formas, esta e o genótipo, *Holoaden lüderwaldti.* Da última existem, ao todo, apenas seis exemplares nas duas coleções. Na do DZSP se acham os exemplares descritos por Miranda Ribeiro, coletados por Lüderwaldt, em Campos do Jordão, no Estado de São Paulo e mais um oriundo de Cidade Azul, no Estado de Minas Gerais. O Museu Nacional, por sua vez, possui três exemplares, dois provenientes do Alto Itatiaia e um da Serra da Bocaina, Estado de São Paulo. Este último equivale a mais um exemplo de ocorrência da mesma espécie serrana em altitude menor na Serra do Mar, onde as condições de clima e principalmente de humidade são mais favoráveis do que na Mantiqueira, devido à maior proximidade do litoral.

De *Holoaden bradei* possuimos perto de cem exemplares, todos êles do Brejo da Lapa e imediações, no Alto Itatiaia, em altitude aproximadamente de 2.100 m. e em floresta rala.

Afinidades. Miranda Ribeiro considera o seu gênero próximo de *Iliodiscus,* que realmente é sinônimo de *Cyclorhamphus.* Concordamos, com o acréscimo, porém, de que se aproxima antes das formas terrestres de *Cyclorhamphus,* como seja *C. eleutherodactylus. Holoaden* também parece ocupar posição intermediária em gradiente que vá de *Cyclorhamphus* a *Craspedoglossa. Holoaden bradei* não difere muito de *Craspedoglossa,* em habitat e em tamanho, e ambas possuem ontogênese direta, não aquática. Mas a língua de *Holoaden* não esta fixa em almofada mediana como a de *Craspedoglossa,* que é inteiramente livre nas margens; a de *Holoaden* obedece à morfologia geral da língua dos anfíbios fáneroglossos, presa em frente.

Transcrevemos a seguir a descrição de Miranda Ribeiro, do seu:

Holoaden, gen. novo. [1]

"Cabeça deprimida, porém grande, cerca de 1/2 do tronco. Focinho circular, narinas antevertidas; vomerinos em dois grupos posteriores às coanas; dentes no maxilar superior presentes. Língua cordiforme; abertura das trompas de Eustáchio mediocre; tímpano oculto. Pupila circular, iris inteira; ôlhos antevertidos. Omosterno e esterno cartilaginosos, coracoides curtos e espêssos; diapofise imperceptìvelmente dilatada. Dedos e artelhos livres; tubérculos metatarsais quase indistintos Péle muito glandulosa em todo o corpo, especialmente na região postim pânica onde as glândulas afetam a forma de grandes paratoides".

Comentário Atualmente (1958), os tubérculos metatarsais são perfeitamente nítidos tanto nos tipos, como na maioria dos espécimes adicionais. É difícil medir a cabeça, salvo nos côndilos, perfazendo, então, aproximadamente, um têrço do comprimento total. A pupila é romboide em *Holoaden bradei*. Embora pareça circular em cinco dos espécimes de *Holoaden lüderwaldti*, o sexto, que é muito maior, tem a abertura pupilar de um dos olhos muito reduzida e de forma romboide.

Redefinição do gênero. *Holoaden*, conforme indica o próprio nome genérico, caracteriza-se pela superfície glandular das faces dorsal e lateral do corpo e de grande parte da coxa. Tímpano ausente, ou coberto por glândulas agrupadas em parotoides às vêzes grandes. Focinho curto, arredondado. Ôlhos dirigidos à frente embora um tanto oblíquos, com pupila romboide, parecendo redonda quando está muito dilatada. Membrana nictitante com debrum escuro. Braço fino. Dedos livres, terminados por discos, alongados e estreitos, mas bem conformados. Procelo. Diapófises sacrais estreitas. Esterno em forma de lâmina, chanfrada. Coracoides espêssos. Gênero serrano, encontrado no solo, em covas, debaixo de pedras e em bromélias.

Holoaden bradei nov. spec.

(Estampa III, figs. 1-4)

Caracterisada pelos caractéres genéricos redifinidos acima. Por hora, endêmica no Alto Itatiaia.

DIAGNOSE DIFERENCIAL. *Holoaden bradei* difere de *H. lüderwaldti* pelo tamanho menor, membros relativamente mais curtos, colo-

[1] Miranda Ribeiro, A. de:
1920 Algumas Considerações sôbre *Holaoden lüderwaldti* e Gêneros Correlatos.
Rev. Mus. Paul. *12*: 317-320, 1 Pl.

rido pardo-oliváceo da face dorsal com sufusão preta irregular e, principalmente, pela côr amarelo cêra ou sulfúreo dos tubérculos palmares e metatarsais e das pontas dos dedos. Alguns dos caractéres genéricos, como sejam as glândulas parotoides e as da margem da face posterior da coxa, a pupila romba e os braços magros, são ainda mais acentuados do que na espécie tipo.

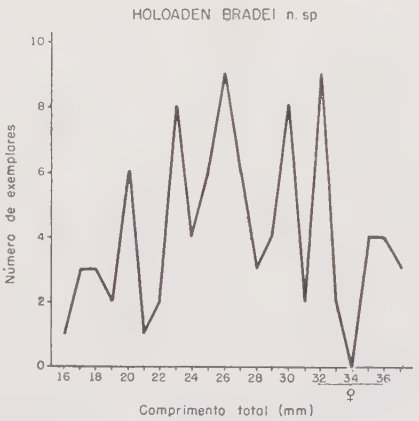
DESCRIÇÃO. Tipo, 2 Cotipos, 84 Parátipos: Porte robusto. Corpo oval. Focinho arredondado em frente. Membro posterior muito curto, especialmente no tipo e outros espécimes grandes. Cabeça mais larga que longa, perfazendo aproximadamente um têrço do comprimento total. Focinho muito curto do ôlho à narina, declive em direção da bôca. Ôlho antevertido, mas um tanto oblíquo; pupila romboide, mais angular em baixo quando parcialmente ou inteiramente cerrada; arredondando-se quando plenamente dilatada. Narinas abaixo da ponta do canto rostral, voltadas para fóra e para cima, muito pequenas. Canto rostral curto, nítido. Ôlho mais longo que a distância do seu canto anterior à narina. Espaço interorbital ligeiramente mais largo que a pálpebra superior. Tímpano invisível, a área tímpânica muito glandular, formando geralmente parotoides grandes. Dentes vomerinos em dois grupos ligeiramente oblíquos atrás das coanas. (Este caractér é variável sendo os dentes bastante indistintos em certos espécimes). Língua espêssa, mais larga posteriormente, inteira, amplamente livre atrás, presa em frente, do modo usual. (Em certos parátipos a língua é mais larga e menos espêssa).

Membros anteriores curtos, especialmente o braço que é magro. Antebraço menos glandular que o resto da face dorsal. Membro posterior muito curto no tipo e nos espécimes grandes. Coxa ligeiramente mais longa que a tíbia, não ultrapassando os calcanhares, um ao outro, quando os dois segmentos superiores são colocados paralelamente entre si e perpendiculares ao corpo. Articulação tibiotarsal alcançando um pouco além do ombro. (Em alguns espécimes alcança a área timpânica). Pé um pouco mais longo que a coxa. Segmentos do membro posterior muito grossos, produzindo a perna uma depressão na superfície da coxa na área do contato que é lisa. Tarso igualmente muito grosso. Dois tubérculos palmares grandes, geralmente confluentes, formando uma almofada bilobada que se estende atraves de tôda a base da mão; alguns pequenos tubérculos palmares suplementares. Dois tubérculos metatarsais. Tubérculos subarticulares bem desenvolvidos. Dedos livres e curtos, terminados por discos estreitos e alongados, bem conformados. Péle glandular em tôda a face dorsal e na maior parte da face lateral. (Estampa III, figs. 1, 3-4). Condição das glândulas, variável: quando cheias, distendidas e elevadas; quando vasias, mais planas e porosas e com a péle solta e esfarrapada, mostrando o contorno das pequenas glândulas in-

ternas que as compõem. Coxa igualmente glândular salvo onde roça nos lados do corpo e da perna; na parte posterior da coxa a superfície glândular as vêzes terminada em prega. Nos cotipos menores e alguns dos parátipos esta prega contorna o ventre. Gula relativamente lisa, abdome também, com aspecto de mosaico em alguns espécimes.

Tamanho. De 90 espécimes medidos, 33 ficam entre 30 e 37 mm. de comprimento, com um máximo de 9 na casa de 32 mm.; 53 vão de 20 a 29 mm.; um máximo de 9 espécimes com 26 mm. e de 6 com 25 ou com 27 mm. Os outros têm de 16 a 19 mm. da ponta do focinho ao ânus.

Colorido em vida.. Pardo oliváceo na face dorsal, com sufusão irregular preta no corpo, mais acentuada na região inguinal. Face ventral mais clara do que em *Holoaden lüderwaldti,* que é preto uniforme em cima e plúmbeo a lívido na face ventral. Almofadas palmares, tubérculos metatarsais e pontas dos dedos amarelo cêra a enxofre, em todos os espécimes vistos (fig 3). A côr amarela desmaia lentamente após a morte, permanecendo claras as áreas por ela ocupadas em vida.



Biótipo. *Holoaden bradei* vive no solo, debaixo de detritos e folhas mortas; oculta-se sob pedras e em bromélias terrestres. O primeiro espécime foi encontrado dentro de uma bromélia na localidade tipo, pelo eminente botânico Dr. A. C. Brade, a quem dedicamos a espécie. Os jovens e a maioria dos exemplares maiores que perfazem uma série de 36 apanhados no fim de uma tarde úmida de Fevereiro de 1954 estavam repousando debaixo de pedras numa área bastante restrita.

Reprodução. Uma fêmea com 33 mm. tinha no ovário direito 8 ovos maciços, com gema grande, bem amarela; o diâmetro era de 3 mm, sem membranas; no ovário esquerdo havia 5 ovos semelhantes. Além destes havia 9 ovos menores no ovário direito e 4 no esquerdo; estavam presentes mais uns trinta ovos não desenvolvidos.

A postura é feita no solo em detritos, humus e entre folhas mortas; um dos pais vigia os ovos. Quando molestado reage, erguendo o corpo sôbre as patas dianteiras como se estivesse de muletas, curva o dorso e chia. (Vide Hinsche, 1928 e Noble. 1930, sôbre atitudes de defesa nos anuros). A ontôgenese terá de ser estudada *in situ.* Foi observada a for-

mação de embriões muito novos em cima da gema. Em certa fase, na qual a cauda ainda é muito pequena, via-se uma abertura lateral grande perto da raiz da cauda. Talvez corresponda ao ânus. Em *Oocormus microps* existe abertura semelhante, mas central, que mais tarde se torna enorme e bilobada. Numa outra postura foram observados exemplares muito miudos em eclosão, mas infelizmente desapareceram em trânsito.

Os exemplares muito pequenos molestados também chiam.

Afinidades. Até agora esta espécie só foi encontrada na localidade tipo, onde é muito abundante, havendo numerosos exemplares em área relativamente pequena. *H. lüderwaldti,* cuja distribuição parece mais ampla, também ocorre ali, mas é tão raro que durante as diversas excursões feitas por nós ao Brejo da Lapa foram encontrados só dois exemplares. As diferenças entre as duas formas não são grandes, mas constantes, especialmente quanto ao colorido, tamanho e porte. *H. bradei* também é mais próximo de *Craspedoglosa bolitoglossa* do que *H. lüderwaldti.*

Transcrevemos abaixo a descrição específica de Miranda Ribeiro do genótipo, (V. loc. cit.):

Holoaden lüderwaldti, sp. nov.

(Est. III, figs. 5-7)

"Aspecto geral de *Hyla,* com a cabeça deprimida, volumosa, de contorno anterior redondo; dentes na maxila superior, vomerinos presentes, em dois grupos totalmente posteriores às coanas. Abertura da trompa de Eustáquio muito posteriores e medíocres. Língua cordiforme, larga. Narinas laterais, mas antevertidas; canthus rostralis pouco evidente. Olhos antevertidos, iris circular sem menisco; tímpano oculto; a região timpânica ocupada por uma prega formada por ampla dilatação parotoide. Omosternum cartilaginoso, esterno idem, lamelar; coracoides curtos e espêssos. Dedos livres, o primeiro igual ou ligeiramente maior do que o segundo, e o terceiro pouco maior que o quarto. Tubérculos subarticulares pouco evidentes; calos palmares presentes, externo oval, maior que o interno. A perna levada à frente mal atinge a região paratoide. Artelhos livres com os dedos terminando em uma ligeira dilatação mais perceptível que naqueles, calos metatarsais de forma semelhante e o exterior quase do tamanho do interno. Nenhum calo tarsal. Péle totalmente glandulosa, com exceção da orla rostral, papo, membros anteriores e parte anterior das coxas. As glândulas do abdome muito pequenas; a péle ai é mais propriamente rugosa no sentido transversal. Coloração: denegrido plumbeo uniforme, no lado superior, abdomen mais

claro, cárneo ou violáceo. Dimensões: Corpo 40 mm., perna 50. (Fig. 5). Dois exemplares de Campos do Jordão, colecionados pelo Sr. Lüderwaldt. Esta forma é muito próxima das que foram descritas no gênero *Iliodiscus* (*Cyclorhamphus?*) que eu considerei afin ao gênero *Acris*. Os autores, seguindo Boulenger, tem deixado *Acris* entre as *Hylas* enquanto, para seguir a regra *Iliodiscus*, *Telmatobius* e *Holoaden* devem ser relegados para Leptodactylidae. Julgo que talvez fosse mais acertado reunir em uma família todos esses gêneros aqui citados que, com os seus caractéres seriam considerados Telmatobiidae. Seria um grupo natural, perfeitamente intermediário entre Leptodactylidae e Hylidae."

Espécimes vistos, (1957-1958). Tipo (dzsp): Graças à gentileza do Dr. P. Vanzolini, chefe da Divisão de Herpetologia do DZSP, tive a oportunidade de estudar os tipos de Miranda Ribeiro. O maior deles, DZSP n.º 87, (fig. 5) está melhor conservado que o outro (n.º 891) e as medidas incluidas na descrição se aplicam a este, que deverá ser considerado como o tipo designado pelo autor. O hábito é muito característico, sem que se apresente, contudo, tão achatado como na figura que acompanha o texto original. Canto rostral rombo. Língua mais estreita que no outro. Primeiro dedo muito pouco mais longo que o segundo; terceiro claramente mais longo que o quarto. Tubérculos palmares e plantares muito nítidos.

Cotipo 891. Língua mais larga e mais espêssa. Céu da bôca em mau estado, dentes vomerinos indistintos. Mão e pé também mal conservados, com alguns dedos amputados, provàvelmente para exame da falange terminal. Esterno chanfrado.

Dzsp. 4 940 de Cidade Azul, Minas Gerais. Ótimo exemplar. Região parotoide menos elevada, formando apenas uma crista glandular alongada. Glândulas pequenas, no abdome, similares às do dorso. Membro posterior mais longo. Braço fino. Coxa lisa onde roça no corpo ou na perna. Todos os tubérculos concordes com a descrição e perfeitamente nítidos.

Museu Nacional: Itatiaia — O primeiro, coletado em março de 1951 pela senhorita Gertrud Rita Kloss, é muito maior que todos os outros (48 mm.); tem a cabeça maciça e os membros posteriores excepcionalmente curtos. (? Fêmea ?). Língua grande e larga, dobrada para a frente. Vomerinos distintos. Glândulas não muito cheias, porosas e compostas de glândulasinhas menores. Péle em muda, esbranquiçada onde está solta.

Êste espécime foi encontrado numa bromélia e deu um grito ao ser agarrado. A pupila de um dos olhos, quase cerrada, apresenta abertura romboide, enquanto que a outra, que está dilatada, é arredondada.

O segundo exemplar, coletado por Élio Gouvea, em janeiro de 1957, estava enterrado num barranco: é pequeno e magro e tem os membros

posteriores relativamente longos. Glândulas da região parotoide enormes. Dentes vomerinos menos nítidos.

Espécime da Serra da Bocaina. Coletado pelos Drs. PAULO MIRANDA RIBEIRO e JOSÉ DE LACERDA FEIO e o filhinho deste, no Núcleo Senador Vergueiro a 1.500 m., em 1957.

Em muda, glândulas menos elevadas. Abdome liso, membros posteriores igualmente lisos. Língua muito grande e larga. Tubérculos distintos. Também este espécime deu um grito ao ser agarrado.

Todos os espécimes de *H. lüderwaldti* são escuros na face dorsal, de côr marrom denegrida e bem mais claros na face ventral, um tanto plúmbea ou lívida.

DIMENSÕES (em mm.):

	D.Z.S.P.		
	n.º 87	n.º 891	n.º 4 940
Focinho-Ânus: Snout-Vent:	39-40	32	35
Membro posterior: Hindlimb:	60	?49 (defect.)	54
Femur:	16	13	14,5-15
Tibia:	16	13	15
Tarsus:	11	9	9
Pes:	17	?14	15
Cabeça, comprimento: Head, length:	16	12-13	12
Cabeça, largura: Head, width:	16	12-13	13

	MUSEU NACIONAL:		
	Itatiaia 1951	Itatiaia 1957	Bocaina
Focinho-Ânus: Snout-Vent:	48	36	40
Membro posterior: Hindlimb:	66	59	59
Femur:	19	16	17
Tibia:	17	16	17
Tarsus:	11	11	9
Pes:	19	16	16
Cabeça, comprimento: Head, length:	16	14	14
Cabeça, largura: Head, width:	19	14	15

Variabilidade. As variações individuais podem ser resumidas do seguinte modo:

Comentários gerais. O estado glandular dos espécimes é variável podendo as pequenas glândulas componentes do conjunto glândular da face dorsal estarem cheias, muito distendidas, arredondadas e mais ou menos uniformes, ou planas e porosas. A segunda fase parece associar-se à péle solta e dilacerada. Parotoides igualmente variáveis. Língua variável em espessura e tamanho, inteira ou ligeiramente chanfrada. Pupila rombóide a circular, conforme o diâmetro da abertura. Tamanho dos espécimes disponíveis de 30 a 48 mm. de comprimento total. Distribuição conhecida: Serras da Mantiqueira e do Mar.

Agradecimentos Ao terminar, apresentamos os mais sinceros agradecimentos aos colegas Srs. P. E. Vanzolini pelo empréstimo de espécimens, Antenor Leitão de Carvalho, pela diafanisação e dissecção de espécimens, desenhos, exame de ovos e opinião sôbre os caractéres genéricos; ao Professor Gualter Lutz e seu assistente, Senhor Clovis de Oliveira, pelas fotografias, mormente as sumamente ingratas de exemplares mortos, antigos, desprovidos de relêvo e contrastes fotogênicos; agradecemos também aos colegas e auxiliares que coletaram espécimens.

Os nossos votos de profundo reconhecimento são devidos ao Dr. Wanderbilt Duarte de Barros e digníssima família pela hospitalidade da sua casa e facilidades de trabalho no Parque Nacional de Itatiaia; agradecemos igualmente aos administradores sucessivos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos e ao Dr. Carlos Guinle, proprietário da Granja Comari, pelas facilidades de trabalho obtidos também naquêles locais.

SUMMARY

Field-work in the sierras near the sea-board of south-eastern Brazil continues to yield new or rare frogs. Four more of these forms are presented here. Two of them, both new, are put into the genus *Eleutherodactylus,* to which they belong by their general habitat, morphology, and also by the osteological characters.

They differ from the known regional species of this genus only by the wider and shorter disks of some of the digits and the more lanceolate build.

The other two species belong to the very little known genus *Holoaden,* established by Miranda Ribeiro in 1920. One of them is his type-species, *H. lüderwaldti,* which continues to be very rare. The other, *H. bradei,* is new. It seems endemic to the Upper Itatiaia and is very plentiful there.

1. **Eleutherodactylus venancioi n. sp.**

(Pl. I)

DIFFERENTIAL DIAGNOSIS. Size small. Females 25-26 mm. Males, average 18 mm. Build slender, lanceolate. Leg relatively short. Disks of 3rd and 4th fingers very short and wide, bilobed or emarginate, in very good specimens with two small scutes. Disks of median toes also short and wide, though less so than those of fingers. Two patterns: one tapestry-like, the other composed of longitudinal stripes; a light vertebral line. Color pale buff, ocasionally darker; vivid orange to orange yellow spots in a dark network on the concealed aspect of thigh. Upper median part of iris light green, to bluish-green, rest enclosed in the dark sub-canthal area. Voice *crrr crrr*. Terrestrial and bromelicolous. Nocturnal, montane.

TYPE LOCALITY AND TYPES. Organ Mountains, at Teresopolis, in the Maritime Range, S.E. Brazil Lat. 22º, 26'; Long. 42º, 58' W.Gr.; alt. 2 500-3 300 feet.

Sixty-six specimens: 6 female cotypes, 60 paratypes, males or not sexed, ranging from 17 to 23 mm. average 18. Smallest specimen 14,5.

DESCRIPTION. (Six female cotypes) Size: 26 mm., (5), 25 mm. (1), from snout to vent. Build slender, elongate, rectilinear between the eyes and the sacrum, (except where dilated by the large eggs, which in two specimens stand out visibly only on the right side); tapering towards the tip of the snout and the groin. Head slightly longer than wide, plane; snout triangular from above, rounded, sloping slightly to the mouth-opening in profile. Canthus rostralis distinct; loreal region rather high, vertical, excavated in front of the eye, flaring slightly quite near to the mouth. Nostrils sub-canthal, very near the tip of the snout. Eye large, in life very prominent above the narrow interorbital space, its longest diameter equal to about 3/4 of the distance from its anterior corner to the tip of the snout. Interorbital space very slightly wider than the upper eyelid. Tympanum quite small, about 1/3 of the diameter of the eye, distinct but enclosed in the dark subcanthal stripe. Mouth-opening very elongate, narrow in front. A very minute, tooth-like, process in the middle of the lower jaw, fitting into a small corresponding groove in the upper one. Maxillary teeth present. Vomerine teeth in two oblique patches, between and behind the choanae. Tongue oval, wide, slightly emarginate and extensively free behind. Fingers free; disks very short and wide, truncate, emarginate or bilobed; especially wide on the 3rd and 4th finger, which is almost as long as the 3rd; narrower on the 2nd, quite narrow on the lst finger, which is short. Palmar tubercles indistinct; subarticular tubercles average. Hindlimb rather short for *Eleutherodactylus,* the adpressed tibiotarsal articulation reaching between the eye and the tip of the snout. Femur slightly shorter than the tibia, the heels overlapping when the segments are placed parallel to each other and perpendicularily to the body. Toes fringed, the disks of the three median ones somewhat enlarged, especially on the 3rd and

4th, but less so than the disks of the fingers, narrower on 2nd, quite narrow on 5th and especially on lst. Sole smooth, with an elongate inner and a small rounded outer tubercle. Skin very faintly shagreened above; a few minute pustules on the upper eyelid.

DIMENSIONS (mm) of female cotypes: snout to vent 26 (5 cotypes) 25 (1). Hindlimb 40 (2), 41 (1) 42 (2) 43(1).. Head length 9 (5) 10 (1); width 7,8 or 9; Eye average 3; eye to tip of snout 4; interorbital space 2.5 to 3. Upper eyelid 2 to 2.5 (1 only). Tympanum 1 mm.

The male and unsexed paratypes range from 14.5 (1 only) to 23 (with an average at 18, to 19, occ. 20 mm. (For details see Portuguese text).

VARIATION. In many of the male paratypes the tongue is more oval and narrower, either notched or entire. The subarticular tubercles are very distinct in some of the paratypes. The arm is thinner than the forearm. In some specimens the tibiotarsal articulation reaches only to the eye, or to its anterior corner.

PATTERN. As it often occurs in the genus *Eleutherodactylus*, there are two different patterns; they may be dominant and recessive; in random collecting they have been found in the proportion of 43: 21, plus 2 specimens on which the pattern is quite indistinct. The former is tapestry-like, forming intrincate figures, centered around the narrow light vertebral line and two pairs of darker dots, one pair near the level of the shoulders and the other near the sacrum, (figs, 2, 4, 5,); the figures mostly consist of concentric, irregular, insular, or confluent spots, of different shades, mostly delimited in contrast. This pattern is disruptive and coincident, (Cott, 1941) covering the head, the dorsal surface of the trunk and the visible areas of the limbs; on the sides of the head, the forearm and the thigh it becomes striped and oblique; on the sides of the body it fades out; and on the concealed surface of the thigh it is replaced by a dark network, enclosing vivid spots, which are very variable in form and size, and also as to the extension and width of the meshes of the net (fig. 5); in a few specimens they are visible on the inside of the leg. A broad, dark, subcanthal stripe over the nostrils, continuing behind the eye, enclosing most of the tympanum and ending before the shoulder. Beneath, background light, indistinctly flecked with gray, especially on the gula and the thigh.

In the other, perhaps recessive, pattern the elaborate tapestry-like figures are replaced by longitudinal bands of diverse tones, to each side of the median vertebral line, which is generally present, though the two pairs of dots are not (figs. 1, 3, 6,). This pattern is also variable; in one cotype (March 1945) the bands are quite regular and extend over the whole dorsal surface of the head and body; in some frogs the darkest ones are next but one to the vertebral stripe; in one other (Nov. 1953) they are broken up into two shorter longitudinal segments on a fairly dark background. Both patterns are inclined to fade after death.

COLOR. The general coloring is composed of tones of yellow and orange, admixed in various proportions, and more or less shaded with neutral gray. The great majority of the individuals are pale, in various

light tones of buff, occasionally deeper and darker, or even suffused with orange, vinaceous or pinkish cinnamon tones. Darker specimens may range from clay color to cinnamon browns and even to olive and umber browns.

The vivid spots vary from orange chrome to cadmium orange and mars yellow (Ridgway 1912). Upper part of iris, above the subcanthal stripe, with a metallic light green, or bluish-green sheen, rest of the eye darker, matching the subcanthal stripe. The upper median segment of the iris may be pale yellow green to viridine and under magnification even beryl-blue (Ridgway 1912).

Eggs. An adult female opened contained 5 large-yolked eggs, 3 mm. in diameter without membranes, in each ovary, besides several quite small ones.

Ecological notes. This little frog has been collected for a number of years. All the specimens are from the Organ Moutains and were got in an area comprising part of the National Park "Serra dos Órgãos", and of the "Granja Comari" and the banks on the road between the two estates. They come out at dusk and sing, sitting on the leaves of bromeliads or other low vegetation. On a wet summer night a fairly large number congregate on the leaves of *Agapanthus umbellatus,* planted at the edge of the artificial "Lagoa dos Penitentes", in the Granja Comari.

AFFINITIES. This species is different from the other regional *Eleutherodactylus*. In pattern it is quite similar to *E. hoehnei,* described at the same time, but there is a great difference in size and relative length of hindlimb; *E. venancioi* occurs in a more northern part of the Maritime Range.

In size, *E. venancioi* approaches only the very small species, such as *E. parvus* Girard. This is however very robust, with a wide head, heavy build and small disks. The pattern and coloring are quite different. It occurs in Theresopolis but is is not plentiful there and seems much more widely distributed over the coastal ranges than our species. *E. parvus* spawns in banks and has not been found in bromeliads.

Name. *E. venancioi* is dedicated to the late Joaquim Venancio, who, for many years, served Prof. Lutz and me with courtsey, intelligence and devotion. This born naturalist deserves the tribute of a more striking species, when such a one becomes available; meanwhile I dedicate the present one to him as he helped to find the first specimens.

Eleutherodactylus hoehnei n. sp.

(Plate II)

A new species of *Eleutherodactylus,* from the Serra de Paranapiacaba, or Serra de Cubatão, a part of the Serra do Mar which lies between the sea and the capital of the state of São Paulo, Brazil, at close to 24° lat. south, 46° long. W. Gr. and 800-900 m., app. 2.600 to 2.900 feet of altitude.

TYPE AND PARATYPES: altogether 13 specimens, 1 type, 5 smaller paratypes and 7 minute juveniles. The type and two paratypes belong to the ADOLPHO LUTZ Collection of the Instituto Oswaldo Cruz (IOC. ns. 2 525, 2 525, 3 376); the others to the Department of Zoology of the State of São Paulo (DZSP. ns. 11,000, 11.064; 10.201-10.206, plus 10.177-78), and were kindly lent by Dr. P. E. VANZOLINI; the last seven of these were collected at km. 47 of the old road from São Paulo to Santos by Souza Brandão, March 1942. The type and all the other specimens were got at the Biological Station of Paranapiacaba, formerly called Estação Biologica do Alto da Serra; those of the D.Z.S.P. got there were collected by VANZOLINI and W. Bokermann.

DIANOSTIC CHARATEHS. *Eleutherodactylus hoehnei* is characterized by the lanceolate build, large size, long legs, hands and feet, and the distinctive pattern of the dorsal surface and sides. The disks of some of the digits are very short and wide in front, appearing truncate in some specimens and in others bilobed, or emarginate; in these digits the T- shaped terminal part of the last phalanx is wide, but otherwise the osteological characters are those of *Eleutherodactylus*. Type 46 mm. Paratypes 28-33 mm. Juveniles from 13 to 16 mm. long.

AFFINITES. *E. hoehnei* is one of a group of two lanceolate forms, with dark sides and tapestry-like pattern; the other, *Eleutherodactylus venancioi* mihi, is described above. *E. venancioi* is however quite small (females 25-26 mm., males 18 mm.); and the legs are relatively short. There is a superficial similarity in coloring and seize between *E. hoehnei* and *E. binotatus* Spix, but the first finger of the latter is considerably longer than the second, the build robust, with relatively short head, trunk and hindlimb; the details of the pattern are also diverse.

DESCRIPTION OF TYPE: n. 2.525 of the ADOLPHO LUTZ Collection (IOC). Size large, 46 mm. from snout to vent, hindlimb 98 (? ♀) (fig. 1). Build slender, lanceolate, widest between the eyes and shoulder, tapering towards the tip of the snout and the groin. Head longer than wide, elongately triangular; snout blunt from above, declivous, curved and projecting slightly in profile. Canthus rostralis distinct; loreal region high, slightly excavated between the eye and the nostril. Eye prominent above the interorbital space, slightly shorter than the distance from its anterior corner to the tip of the snout. Interorbital space slightly wider than the upper eyelid. Nostrils subcanthal, distinct, but enclosed in the dark subcanthal area. Mouth-opening very elongate, narrow in front, in the middle slightly emarginate; a small, tooth-like, process in the lower jaw, fitting into a groove in the upper one. Maxillary teeth present. Vomerine teeth placed well behind the choanae, in two oblique, posteriorly converging groups. Tongue large, oval, notched, extensively free behind. Hand large; fingers long, free; order of growth 1 2 4 3. Disks short, wide in front on 3rd and 4th fingers, less so on 2nd, small, rounded on lst; an elongate palmar tubercle under the lst finger, a less definite, divided, outer, one, under the 3rd and 4th; a few other, indistinct, palmar tubercles; subarticular tubercles distinct. Hindlimb very long,

double the length of the body; tibiotarsal articulation reaching well beyond the tip of the snout when the hindlimb is adpressed. Femur shorter than tibia, heels overlapping greatly when the two segments are placed parallel to each other and perpendicularily to the body. Toes with a narrow fringe and a rudiment of web at the base. Disks short and wide in front, on 3rd and 4th toes, though less so than those of the fingers; narrower, on 2nd and 5th, small, rounded on the lst toe, which is very short. An elongate inner and a shorter outer metatarsal tubercles. A glandular fold on the forearm, to the elbow, and on the tarsus, to the heel. Skin smooth, finely shagreened above, with a few scattered glandules on the upper eyelid, forearm, corner of the mouth, back and sides of the body. Beneath smooth except for the median lower surface of the thigh. A ventral disk?

Color. In life, not seen. In alcohol buff, brown and ivory. Above different tones of warm buff. A rather indistinct, light, vertebral line from the tip of the snout to the vent. A very indistinct, roughly hour-glass-shaped, but angular, pattern in the middle, which may also be interpreted as a succession of three, diamond-shaped, median, darker areas, placed end to end, slightly distorted in the middle, petering out in front and tapering irregularily behind; surrounding them, a slightly lighter area delimited by two faint dorso-lateral lines. A pair of dark dots emphasizing the widest points of the median figure, at the shoulders and at the sacrum; a similar dark dot on the head, in front of the eyes. Pattern on the dorsal aspect of the limbs tapestry-like and oblique, extending to the digits. Concealed part of the thigh enclosing minute lighter areas, which are probably more vivid in life. A wide, dark brown stripe on the sides, beginning at the tip of the snout, covering the nostrils and ear-drums, deflected at the shoulders and dying out behind the elbows. A few dark ornamental spots on the sides of the head, under the eyes, on the upper lip and on the sides of the body. A very faint dark border round the lower jaw and the outer lower edge of the forearm, leg and tarsus. Beneath, faded, slightly vermiculate, spots, composed of minute melanophores, on the gula, chest, front of the belly and mid-ventral aspect of the thighs. Median upper part of the iris silvery. Nictitating membrane with a dark border.

VARIATION. In this short series variation seems insignificant. In two of the paratypes the interorbital space is no wider than the upper eyelid, in one the tongue is less extensively free. Two have folds over the chest; in one of these and in a third paratype there seems to be a ventral disk. In the juveniles the vomerine teeth are indistinct but the disks are already quite typical. The main differences in the larger paratypes concern the details of the dorsal pattern.
(See drawings in Portuguese text.)

Habitat. Unfortunately this species has not yet been collected by us. The type and paratype 2.526 were sent, in April 1934, by the prominent botanist Dr. F. C. Hoehne, then director of the Biological Station, for whom the species is named. Paratype 3.376, which has been

cleared for osteological purposes, was given by Mr. and Mrs. MULFORD and RACINE B. FOSTER, who specialize in bromeliads. The paratypes of the DZSP from km 47 of the old road were got in a large clearing. These finding places agree with the habits of *E. venancioi*, the minute allied species of *E. hoehnei*, which likes banks, gardens and bromeliads, at the edges of rain forest.

Holoaden Mir. Rib., 1920

This is a very unusual genus. So far, I have seen it only in nature, and in the collection of the Department of Zoology of the State of São Paulo (DZSP) and in our collection. At present, there are two forms, *Holoaden lüderwaldti* MIRANDA RIBEIRO 1920, and another, smaller one, described as *H. bradei*, here. Of *H. lüderwaldti* there are six specimens available, the two original cotypes and one other, belonging to the DZSP, and our three. The specimens of the São Paulo collection were got on the Serra da Mantiqueira, the cotypes at Campos do Jordão, a health-resort in the State of São Paulo, the other at Cidade Azul, in the state of Minas Gerais. Our first two specimens were caught on the Upper Itatiaia, at Brejo da Lapa, state of Rio de Janeiro, alt. app. 7.000 feet. The last specimen was obtained in the Serra da Bocaina, which is part of the Maritime Range, at about 5.000 feet. This is one more exemple of montane southeastern plants and animals occurring at lower altitudes in the Maritime Range than in the Mantiqueira, which is higher and further inland.

Of *Holoaden bradei* n. sp. close to a hundred specimens have been observed, near Brejo da Lapa, Upper Itatiaia, at app. 7.000 feet of altitude.

Follows a translation of the generic and below of the specific diagnoses drawn up by Miranda Ribeiro (1920):

Holoaden gen. nov.

"Head depressed, but large. about ½ the trunk. Snout circular, nostrils directed forwards; vomerine teeth in two groups behind the choanae; maxillary teeth present. Tongue cordiform; opening of Eustachian tubes moderate; tympanum hidden. Pupil circular, iris entire; eyes directed forwards. Omosternum and sternum cartilaginous, coracoids short and thick; diapophysis imperceptibly dilated. Fingers and toes free; metatarsal tubercles almost indistinct. Skin very glandular on the whole body, especially in the post-tympanic ridge where the glands have the form of large parotoids." (End of translation).

COMMENTS: Now (1958), the metatarsal tubercles are quite distinct in the two cotypes and very distinct in most of the other specimens. The head is difficult to measure, except at the condyles, but is about 1/3 of the total length. The pupil is rhomboid in *H. bradei*. Though it seems circular in most specimens of *H. lüderwaldti*, the largest specimen shows a very minute rhomboid pupilar aperture in one eye.

Redefinition of generic characters. *Holoaden,* as the name conveys, is characterized by the entirely glandular dorsal and lateral surfaces of the body and of most of the thigh. Tympanum absent, or covered by glands, which may form large parotoids. Snout short, rounded. Eyes directed forward, though somewhat oblique, with rhomboid pupil, appearing rounded when fully dilated, and nictitating membrane with a dark rim. Arm thin. Digits free, ending in narrow, elongate, well-shaped disks. Procoelous. Sacral diapophyses narrow. Sternum blade-shaped, emarginate. Coroacoids thick. Montane, found on the ground, under stones and mulch, in burrows and in bromeliads.

Affinities. Miranda Ribeiro considers his genus as very close to *Cyclorhamphus,* i. e. his (*Iliodiscus*). If so, it should be nearer to the terrestrial forms, such as *C. eleutherodactylus. Holoaden* may also be placed on a cline going from the terrestrial *Cyclorhamphus* to *Craspedoglossa. H. bradei* is not unlike *Craspedoglossa bolitoglossa* in habit and both have direct development. In *Holoaden,* however the tongue is not attached to a median bolster and free all round, but attached in front as usual.

Holoaden bradei nov. spec.

(Plate III, figs. 1-4)

Characterised by the generic characters redefined above. Development direct. At present, endemic on the Upper Itatiaia.

Differential diagnosis. *Holoaden bradei* differs from *H. lüderwaldti* by the smaller size, relatively shorter limbs, olive-brown dorsal surface, irregularily suffused with soot-black, and especially by the constant sulfur-yellow color of the palmar pads, metatarsal tubercles and tips of the digits. Some of the generic characters, such as the glandular lumps on the parotoid region and on the hind edge of the thigh, the rhomboid pupil and thin arms, seem even more accentuated than in the type-species.

Description. Type, 2 Cotypes, 84 Paratypes, (figs. 1-4). Build robust. Body oval. Snout, rounded in front. Hindlimb very short, especially in type and other large specimens. Head approximately 1/3 of the total length, wider than long. Snout very short from the eye to the nostril, declivous to the mouth-opening. Eye somewhat oblique, but directed forwards; pupil rhomboid when partially or almost entirely closed, narrowed in the middle below, seeming rounded when fully dilated. Nostrils below the end of the canthus, opening upwards and outwards, very minute. Canthus rostralis short, indistinct. Eye longer than the distance from its anterior corner to the nostril. Interorbital space slightly wider than the upper eyelid. Tympanum not visible, the tympanic area very glandular, mostly forming large parotoids. Vomerine teeth

behind the choanae in two, slightly oblique, groups. (Variable; in some specimens rather indistinct).

Tongue, thick, wider behind, entire, extensively free, attached in front as usual. (In a certain percentage of the paratypes, wider, thinner).

Forelimbs short, especially the upper arm, which is thin. Forelimb less glandular than the rest of the dorsal surface. Hindlimb very short in type and large specimens. Thigh very slightly longer the tibia, the heels not overlapping when placed parallel to each other behind the body. Tibiotarsal articulation reaching to the front of the shoulder. (In some specimens to the tympanic area). Foot very slightly longer than the thigh. Segments, very thick, the leg causing a depression on the surface of the thigh, which is smooth at the area of contact. Tarsus very thick also. Two very large, palmar tubercles, mostly confluent into a single bilobed pad across the base of the hand; other small palmar tubercles. Two large metatarsal tubercles. Subarticular tubercles well-developed. Digits free, short, ending in narrow, elongate, well-shaped disks. Skin glandular all over the dorsal surface and most of the sides. Condition of glands variable: when full they are rounded and elevated, when flatter the skin sloughs and seems pitted, with the glandules visible beneath it. Thigh also glandular, except where it comes into contact with the sides of the body and the leg. Behind this point sometimes a glandular surface ending in a lateral fold. In the smaller cotypes and of some paratypes the fold encircles the belly and glandules are visible below it. Gula relatively smooth, belly also, tesselated in some specimens.

SIZE. Out of 90 specimens, 33 are between 30 mm.-37 mm. long, with a peak of 9 at 32 mm; 53 are from 20 to 29 mm., with a maximum of 9 at 26 mm., and of 6 at 25 mm. and at 27 mm. The others are from 16,5 to 19 mm., snout to vent length. (See graph in the Portuguese text.)

COLOR IN LIFE. Olive brown above, with an irregular soot-black suffusion on the body, often very accentuated at the groin. Lower aspect lighter than in *H. lüderwaldti,* which is uniformely brown black above and plumbeous to livid beneath. Palmar pads, metatarsal tubercles, and tips of the digits sulfur-yellow in the whole series, (fig. 3). The yellow color fades slowly after death but the corresponding areas remain light.

BIOTOPE. *Holoaden bradei* lives on the ground, under mulch and leaves; it hides under stones and goes into bromeliads growing there. The juveniles and most of the others forming a series of 36, caught on the same late afternoon of February 1954, were resting under stones in a very small area. The first specimen was found in a bromeliad, — while collecting at the type locality — by the distinguished botanist Dr. A. C. BRADE, for whom it is named.

REPRODUCTION. One female, 33 mm. long., contained 8 eggs with massive, deep-yellow yolk, 3 mm. in diameter, without membranes, in the

right ovary and 5 in the left one. Besides these, there were 9 somewhat smaller eggs in the right and 4 in the left ovary; each of them also contained some thirty minute undeveloped eggs.

The eggs are laid on the ground in mulch and leaves and one of the parents guards the clutch. If disturbed it raises itself on the forelimbs as if on stilts and hisses. See Hinsche (1928) and Noble (1930) on defensive action in frogs. Development needs to be further observed *in situ*. Early embryos have been seen forming on top of the yolk. At one stage, when the tail is still quite small, a large opening is visible by the side of its root. It may perhaps correspond to the anus. In *Oocormus* there is a similar but central opening, which becomes large and bilobed. Very small froglets were found hatching out of another clutch but they were lost in transit.

RELATIONSHIPS. So far this species has only been found in the type-locality, where it is very abundant and many specimens are found within a small radius. *H.lüderwaldti.* which seems to have a wider distribution, also occurs there, but is so rare that only 2 specimens were got during the seven diverse occasions in which this place was thoroughly searched. The differences between the two are not very large but they are constant, especially as to coloring, size and habit. H. bradei is also more similar to *Craspedoglossa bolitoglossa* than *H. lüderwaldti*.

(Translation of Miranda Ribeiro's description):

Holoaden lüderwaldti sp. nov.

(Pl. IV, figs. 5-7)

"General aspect of *Hyla,* the head voluminous, depressed, with rounded anterior outline; teeth on the upper maxilla, vomerine teeth present, in two groups entirely behind the choanae. Opening of Eustachian tubes very far behind and moderate. Tongue cordiform, wide. Nostrils lateral, but directed forwards; canthus rostralis little evident. Eyes turned forwards, iris circular, without a meniscus, tympanum invisible; the tympanic region occupied by a fold formed by an ample parotoid dilatation. Omosternum cartilaginous, sternum also, blade-like; coracoids short and thick. Fingers free, the first equal to, or slightly longer, than the second, and the third slightly longer than the fourth. Subarticular tubercles slightly evident, palmar tubercles present, outer one oval, larger than the inner one. The leg barely reaching the parotoid region. Toes free, the tips ending in a slight dilatation more noticeable than that of the fingers; metatarsal tubercles alike in shape, the outer one nearly as large as the inner one. No tarsal tubercles. Skin entirely glandular, except for the border of the snout, gula, forelimbs and anterior part of the thighs. The glands on the abdomen very small; the skin here being rather transversaly rugose. *Color*: a leaden black, uniform on the upper surface; abdomen lighter, flesh or violaceous colored. *Dimensions*: Body 40 mms., Leg. 50. (Fig. 5) Two specimens, from Campos do Jordão, collected by Mr. Lüderwaldt. This form is very close to those described as *Iliodiscus* (*Cyclorhamphus?*) which I consider akin to the genus *Acris*. The authors, following Boulenger, have put *Acris* with *Hyla* and so as to comply to the general rule, have relegated *Iliodiscus, Telmatobius* and *Holoaden* to the Leptodactylidae. I consider it more advisable to unite all the genera mentioned here into a family whose characters would define the *Telmatobiidae*. This would form a natural group, perfectly intermediate between the Leptodactylidae and the Hylidae." (End of translation).

SPECIMENS SEEN. TYPE. Through the kindness of Dr. P. VANZOLINI, head of the Herpetological Section of the DZSP, I was able to study the types and their additional specimen, in December 1957. The larger type, n. 87, is in a better condition than the other (n. 891) and the measurements given in the description evidently apply to it. The habit is very characteristic but not so much flattened as in the figure accompanying the original text. Canthus rostralis blunt. Tongue narrower than in the other. First finger barely longer than the 2nd; 3rd, decidedly longer than 4th. Tubercles on hand and foot quite evident.

VARIATION. The individual variations in all the specimens can be summed up in the following:

COMMENTS. The state of the glands on the dorsal surface varies, from full, rounded, more or less uniform, component glandules, to flatter, more pitted ones, the latter associated with moulting skin; on the parotoid region from very large elevations to simple glandular ridges. Tongue variable in thickness and width; entire or barely emarginate. Vomerine teeth individually variable in distinctness. Pupil appearing rhomboid or circular according to the aperture and position. Available specimens ranging from 30-48 mm. of head and body length.

ACKNOWLEDGMENTS. I am very grateful to the following persons: Dr. P. VANZOLINI of the DZSP for lending specimens, Miss RITA KLOSS, mr. ELIO GOUVEA, Drs. PAULO MIRANDA RIBEIRO and J. LACERDA FEIO and the small son of the latter, for collecting specimens; mr. ANTENOR LEITÃO DE CARVALHO for technical help and opinions, and drawings, dr. GUALTER A. LUTZ, and mr. CLÓVIS DE OLIVEIRA and M. LEÃO for photographing dead and faded specimens. Best thanks are due to Dr. WANDERBILT DUARTE DE CARVALHO and his family for hospitality and help in the National Park at Itatiaia and to Mr. CARLOS GUINLE and the administration of the National Park at Serra dos Orgãos, for opportunity to collect in Teresopolis.

BIBLIOGRAFIA

LITERATURE

COTT, H. B., 1941 — Adaptive Coloration in Animals. Oxford University Press, New York ed.

GIRARD, C., 1853, 1858 — *Hylodes parvus* in P. Ac. Philad. 6: 423 & U.S. Expl. Expedition, Herpetology: 63, pl. 3, figs. 24-28.

HINSCHE, 1928 — Kampfreaktionen bei einheimischen Anuren. Biol. Zbl. 48: 577-617, 7 figs.

LUTZ, B., 1951 — Nota Prévia sôbre alguns Anfíbios Anuros do Alto Itatiaia. Separata de "O Hospital": 705-707, Maio.

LUIZ, B., 1952 — New Frogs From Itatiaia Mountain, Brasil. Copeia (1): 27-28, June, 2.

LUTZ, B., & LEITÃO DE CARVALHO, A. 1958 — New Frogs From the Coastal Ranges of Brazil. Mem. Inst. Osw. Cruz 56 (1): 239-249, 5 Pls.

MIRANDA RIBEIRO, A. de, 1920 — Algumas considerações sôbre *Holoaden lüderwaldti* e Gêneros Correlatos. Rev. Mus. Paul. 12: 317-320, 1 Pl.

NOBLE, G. K., 1931 — Biology of the Amphibia. Mc. Graw Hill Book Co. New York & London.

RIDGWAY, R., 1912 — Color Standards and Nomenclature. Washington D.C.

SPIX, J. B., 1824 — *Rana binotata* in Spec. Nov. Testud. Ran. Bras.: 31, pl. 20, f. 30.

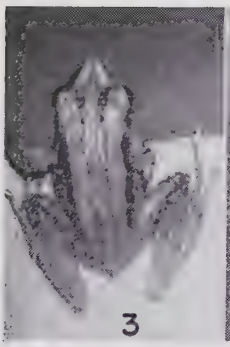
ESTAMPA 1

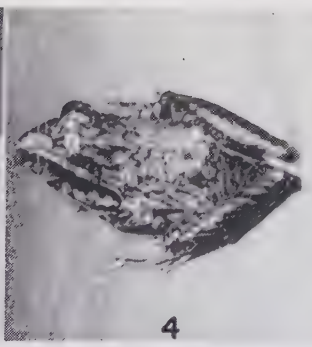
Eleutherodactylus venancioi n. sp.

figs. 2, 4, 5, padrão tapeçaria;
tapestry pattern.

figs. 1, 3, 6, padrão longitudinal;
longitudinal pattern.

ESTAMPA 1





ESTAMPA 2

Eleutherodactylus hoehnei n. sp.

fig. 1: tipo;
figs. 2-3 paratipo;
fig. 4. juvenil.

1

2

3

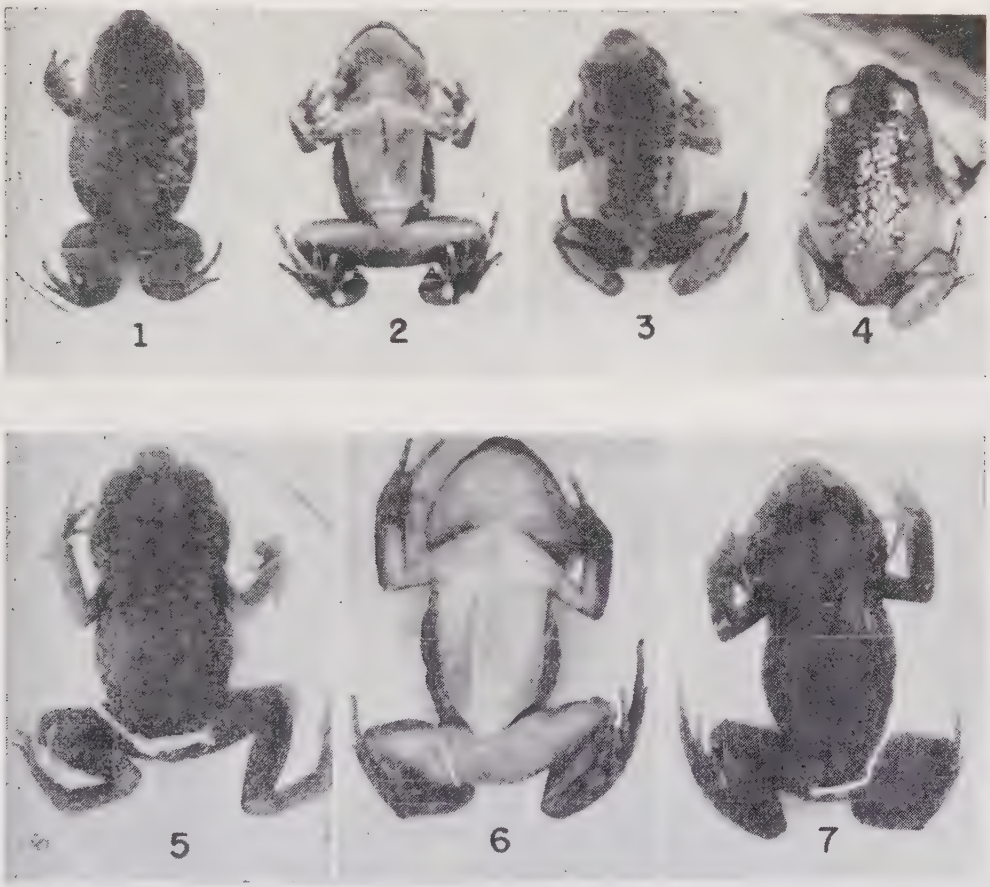
4

ESTAMPA 3

HOLOADEN MIR. RIB.

Figs. 1-4 *Holoaden bradei* n. sp.
Figs. 5-7 *Holoaden lüderwaldti* Mir. Rib.

ESTAMPA 3



Aspectos Climáticos da Distribuição dos Transmissores da Doença de Chagas no Vale do Rio São Francisco (*)

Emmanuel Dias
Chefe da Secção de Inquéritos e Trabalhos de Campo, Instituto Oswaldo Cruz

e

Salomão Serebrenick
Chefe da Divisão de Estudos e Projetos da Comissão do Vale do S. Francisco

Entre os projetos de maior importância médico-sanitária do plano de recuperação da Bacia do Rio São Francisco, figura o do saneamento da região relativamente aos insetos responsáveis pela transmissão da endemia esquizotripanósica.

Interessando-se efetivamente pelo assunto, a Comissão do Vale do Rio São Francisco, não só firmou convênio com o Departamento Nacional de Endemia Rurais para enfrentar o problema, como, por intermédio dêsse Departamento, ofereceu sua colaboração ao Instituto Oswaldo Cruz para a realização de uma campanha experimental de erradicação dos triatomíneos domiciliários do município de Bambuí, de cujos resultados se esperam ensinamentos de real valor para o planejamento de futuras ações de grande envergadura contra os vectores da doença de CHAGAS.

Embora haja diversas espécies veiculadoras do *Schizotrypanum cruzi* na região, 5 são as mais importantes, a saber: *Panstrongylus megistus, Triatoma sordida, Triatoma infestans, Triatoma brasiliensis* e *Triatoma maculata*, cuja distribuição geográfica, tal como é presentemente conhecida de acôrdo com dados colhidos na literatura, descrevemos e procuramos interpretar na presente nota, que constitui apenas trabalho preliminar a ser posteriormente completado.

Outros triatomíneos, de menor importância epidemiológica, ocorrentes na Bacia do São Francisco são: o *Panstrongylus geniculatus;* o *P. lutzi* (recentemente achado infectado na natureza, segundo comunicação verbal do Dr. DURVAL T. LUCENA), o *T. vitticeps,* o *T. petrochi,* o *P. diasi,* o *T. arthurneivai* e o *Rhodnius neglectus.*

(*) Trabalho apresentado ao XVIII Congresso Internacional de Geografia, Rio de Janeiro, agôsto de 1956.

Recebido para publicação em 16-5-1958.

Levadas em conta sòmente as 5 espécies mencionadas como as mais importantes, sabe-se que elas se acham presentes, isoladas ou associadas, em pelo menos 150 dos 208 municípios compreendidos na Bacia do São Francisco (72%). (§)

Os mapas (ns. 1 a 6) que ilustram êste trabalho dão uma idéia da distribuição geográfica das 5 espécies, ao passo que o quadro anexo relaciona, por Estado, os municípios nos quais êsses triatomíneos já foram encontrados, infectados ou não.

O exame daqueles mapas e quadro mostra, antes de tudo, que é bastante variável a incidência das diferentes espécies, tomando-se por base o número de municípios em que já foram observadas. Não resta dúvida de ser algo precário êsse critério, seja por causa da desigualdade territorial dos municípios, seja porque não é considerado o grau de freqüência em cada município, como, finalmente, porque em muitos deles ainda não se fizeram trabalhos de procura dos "barbeiros".

Verifica-se, em todo caso, que a espécie mais freqüente é a *Panstrongylus megistus,* cuja presença já foi constatada em 113 dos 208 municípios do Vale (54%), tendo sido comprovada sua infecção por flagelados em 74 municípios (35%).

A segunda espécie mais freqüente é o *Triatoma sordida,* que já foi observado em 76 municípios (37%).

Seguem-se, em ordem decrescente de freqüência, o *Triatoma infestans* com 13%, o *T. brasiliensis* (consideradas a espécie tipo e as duas variedades T. b. melanica e T. b. macromelasoma) com 10% e o *T. maculata* com apenas 7%.

Em seguida, cabe notar outro aspecto da distribuição especial das 5 espécies de triatomíneos: não pròpriamente sua simples freqüência segundo o número de municípios, considerados indistintamente, em que tenham sido encontradas, senão pelo grau de sua concentração em determinadas regiões do Vale.

Sob êsse aspecto, é de se observar que o *P. megistus* é mais freqüente de Januária para o sul, especialmente no extremo meridional da Bacia Alta (Mapa n.º 1); o *T. sordida* distribui-se com certa uniformidade ao longo do Vale (sòmente faltando no trecho litorâneo do Baixo São Francisco) (Mapa n.º 2); o *T. infestans* ocorre nítida e exclusivamente na parte meridional do Alto São Francisco, sobretudo nas cabeceiras (Mapa n.º 3) (§); e, finalmente, o *T. maculata* e o *T. brasiliensis,* os menos freqüentes, pràticamente se limitam ao Sub-Médio S. Francisco, ou zona das corredeiras, entre Juazeiro e P. Afonso (Mapas n.º 4 e 5).

O mapa de conjunto (n.º 6) revela que, fazendo abstração das espécies, o Alto S. Francisco é a região de concentração indiscutível dos "barbeiros", onde, aliás, a percentagem de infecção é também a maior,

(§) Devido aos numerosos desmembramentos operados nos últimos anos, o Vale do São Francisco compreende agora 151 municípios.

(§) Há referências à presença do *T. infestans* na região do São Francisco nos Estados da Bahia e Pernambuco, porém o achado necessita confirmação.

decrescendo para jusante, tanto a freqüência como o grau de infecção até se tornarem pràticamente inexistentes no Baixo S. Francisco, entre P. Afonso e a foz no Oceano.

Uma interpretação da influência das condições exteriores, especialmente climáticas, sôbre o desenvolvimento e distribuição dos "barbeiros" no Vale do São Francisco afigura-se desde logo difícil e insegura, não tanto pela deficiência de dados básicos quanto pela complexidade intrínseca do problema.

O fato de serem assaz diversificados os aspectos climáticos das várias partes do Vale e, não obstante, se encontrarem "barbeiros" em quase tôda a sua extensão traduz uma dificuldade capital. Segue-se dai, efetivamente, que, dentro do Vale, os elementos meteorológicos não apresentam valores críticos determinados pela fisiologia dos insetos em questão. A única observação que talvez se possa fazer é a de que no Baixo São Francisco, já no trecho próximo à costa, possívelmente se verifiquem tais valores críticos, dado que na referida região ainda não foram encontrados "barbeiros" de nenhuma espécie.

Associar a existência de tais valores críticos à temperatura e à unidade não parece fácil — em que pese a opinião de vários autores que aceitam tal influência, admitindo seja o litoral desfavorável à incidência dos transmissores por ser, relativamente, mais frio e mais úmido. Tal ponto de vista não se impõe no caso do Vale, porque o Alto São Francisco é a região mais fria e mais úmida da Bacia e, no entanto, é a que apresenta incidência máxima de "barbeiros".

Quanto aos outros elementos meteorológicos — como nebulosidade insolação, evaporação e chuva — também se pode afirmar que as condições do Baixo São Francisco se repetem em outros pontos do Vale, onde todavia, os "barbeiros" proliferam.

O único elemento que, até certo ponto, distingue a faixa litorânea do Vale, contrastando sobretudo com o Alto S. Francisco, é a intensidade de *vento,* que no Baixo S. Francisco, é constantemente levada, oscilando em tôrno de 4 m/seg, na média anual, em comparação com apenas 1 a 2 m/seg na região das cabeceiras.

Sendo, como mostrado, difícil descobrir, em caráter convincente, a eventual influência das condições climáticas sôbre o conjunto das espécies de "barbeiros", é entretanto possível apontar certas particularidades, se consideradas essas espécies isoladamente.

Assim, o confronto da distribuição de cada espécie de transmissores com a dos principais elementos climáticos revela que, no Vale:

a) — o *P. megistus* e o *T. infestans* incidem em região de clima "temperado brando, úmido ou semi-úmido" (Alto São Francisco), com:
   — *temperatura* média anual inferior a 24° e, de preferência, inferior a 21° (18° a 24° e 18° a 21°, respectivamente):
   — *unidade* relativa anual compreendida entre 73% e 80%, de preferência entre 75% e 80%;

— *nebulosidade* média anual de 6 décimos;
— *vento* médio anual abaixo de 2 m/seg;
— *evaporação* anual abaixo de 1.000 mm., e de preferência abaixo de 500 mm.;

b) — o *T. brasiliensis* e o *T. maculata* incidem em região de clima "tropical semi-árido" (Sub-Médio São Francisco), com:
— *temperatura* média anual entre 25° e 27°;
— *unidade* relativa anual entre 50% e 73%;
— *nebulosidade* média anual abaixo de 5 décimos;
— *vento* médio anual entre 3 e 4 m/seg;
— *evaporação* anual em tôrno de 2.000 mm;

c) — o *T. sordida*, que ocorre em todo o Vale, salvo na faixa próxima ao litoral, admite as amplitudes meteorológicas combinadas dos itens *a* e *b* supra, sòmente não comportando talvez a combinação do *vento* relativamente forte e constante do Baixo S. Francisco com a *unidade* relativamente elevada reinante nessa região.

Embora modestas e perfunctórias as conclusões dêste trabalho, os autores esperam que elas poderão servir de ponto de partida para investigações mais seguras e frutíferas sôbre a correlação entre a distribuição dos triatomas e as condições climáticas.

Observações:

I) — O sinal positivo significa que os "barbeiros" foram encontrados com flagelados no intestino.

II) — O sinal negativo significa que a pesquisa de flagelados no intestino dos "barbeiros" foi negativa ou que os insetos não foram examinados.

III) — A falta de sinal (municípios em branco) não permíte concluir pela inexistência de "barbeiros", significando apenas que nos respectivos municípios ainda não foram encontrados ou não foram procurados "barbeiros".

IV) — Na relação abaixo, foram incluídos alguns municípios (marcados com (§) que não pertencem ao Vale do São Francisco, mas se acham próximos à sua periferia.

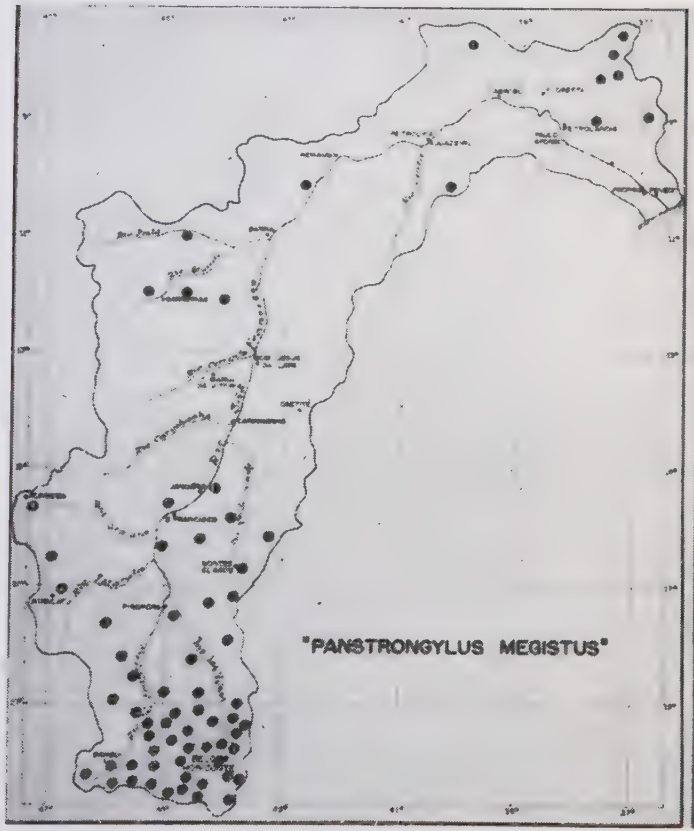
V) — O número atual dos municípios do Vale do São Francisco (251) é assaz maior que o constante da lista abaixo e é devido aos numerosos desmembramentos operados nos últimos anos. Foi, entretanto, julgado conveniente não incluir os nomes dêsses novos municípios, em virtude de os dados disponíveis se referirem à divisão municipal de alguns anos atrás.

MUNICÍPIOS	P. megistus	T. sordida	T. infestans	T. maculata	T. brasiliensis
		MINAS GERAIS			
1 — Abaeté	+		+		
2 — Arcos	+	+	+		
3 — Baldim					
4 — Bambuí	+		+		
5 — Barão de Cocais (Ú)	—				
6 — Belo Horizonte	+				
7 — Belo Vale	—				
8 — Betim	+				
9 — Bocaiuva	+	+			
10 — Bom Despacho	+				
11 — Bonfim	+				
12 — Brasília	+				
13 — Brumadinho	+				
14 — Buenópolis	+	+			
15 — Caeté					
16 — Campos Altos	+				
17 — Capitólio (Ú)	+		+		
18 — Carmo da Mata					
19 — Carmo do Cajuru	—				
20 — Carmo do Paranaíba	+				
21 — Carmópolis de Minas	—				
22 — Cláudio	+				
23 — Conceição do Mato Dentro	+				
24 — Congonhas	—				
25 — Conselheiro Lafaiete	—				
26 — Contagem	+		+		
27 — Coração de Jesus			+		
28 — Cordisburgo	+				
29 — Corinto	+	+			
30 — Coromandel (Ú)	+	+	+		
31 — Córrego Danta	+		+		
32 — Cruzlândia	—				
33 — Curvelo	+				
34 — Diamantina	+	+			
35 — Divinópolis	+				
36 — Dôres do Indaiá	+				
37 — Esmeraldas	—				
38 — Espinosa		+			+
39 — Estrêla do Indaiá	+				
40 — Felixlândia	—				
41 — Formiga	+				
42 — Francisco Sá	+	+			-
43 — Grão Mogol	+	—			
44 — Guia Lopes	+		+		
45 — Iguatama	+		+		
46 — Inhaúma	+				
47 — Itabirito					
48 — Itaguara	—				
49 — Itapecerica	+				
50 — Itaúna	+				
51 — Jaboticatubas	+	+			
52 — Janauba					
53 — Januária					
54 — Jequitaí	—				
55 — Jequitibá	+				
56 — João Pinheiro	+				
57 — João Ribeiro					
58 — Lagoa da Prata	+				
59 — Lagoa Dourada					
60 — Lagoa Santa	+				
61 — Luz	+		+		
63 — Manga		+			
63 — Mariana (Ú)	+				
64 — Martinho Campos	+				
65 — Mateus Leme	+				
66 — Matozinhos	+				
67 — Monte Azul					
67 — Monte Azul					
68 — Montes Claros	+				
69 — Moravânia	+				
70 — Nova Lima	+		+		
71 — Oliveira					
72 — Ouro Prêto					
73 — Pains	+		+		
74 — Paracatu	+		+		
75 — Pará de Minas	+				

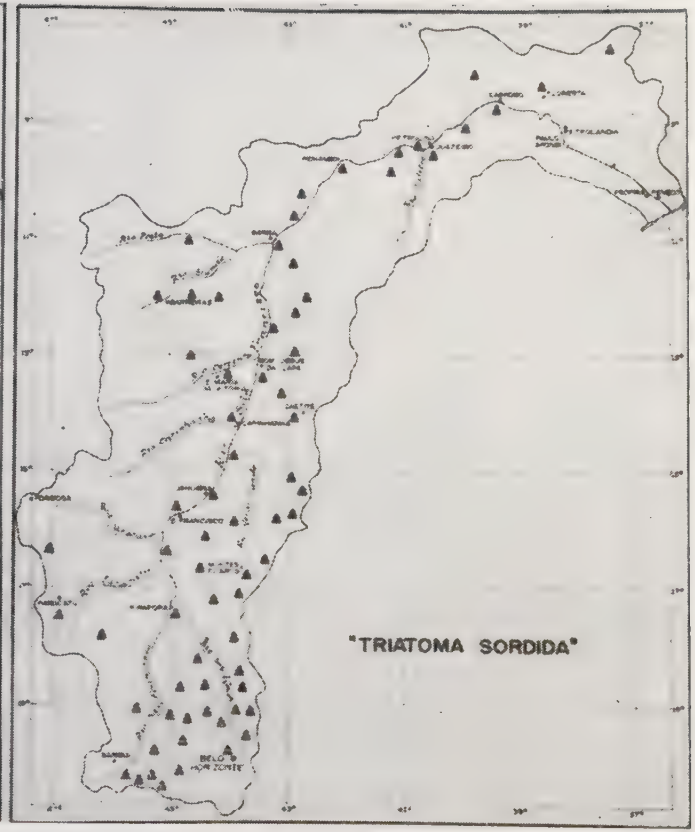
MUNICÍPIOS	P. megistus	T. sordida	T. infestans	T. maculata	T. brasiliensis
		RECIFE (conclusão)			
76 — Paranatama	+	+			
77 — Passa Tempo					
78 — Patos de Minas	+	—	—		
79 — Pedro Leopoldo	+	—			
80 — Pegui		—			
81 — Pimenta	+		+		
82 — Pirapora	+	+			
83 — Pitangui	+				
84 — Piui	+		+		
85 — Pompeu	+				
86 — Porteirinha		—			
87 — Pratinha			+		
88 — Presidente Olegário	+				
89 — Raposos	+				
90 — Resende Costa					
91 — Rio Acima	—				
92 — Rio Paranaiba	+				
93 — Sabará					
94 — Santa Bárbara (Ú)	+				
95 — Santa Luzia					
96 — Santana de Pirapama	+				
97 — Santo Antonio do Monte	+				
98 — São Francisco	—	+			
99 — São Gonçalo do Abaeté	+				
100 — São Gonçalo do Pará	—				
101 — São Gotardo	+				
102 — São José da Ponte	+				
103 — São João Batista do Glória (Ú)	—	+			
104 — São Romão	+	+			
105 — Sete Lagoas	+	—			
106 — Tiros	+				
107 — Unaí	+	+			
108 — Vespasiano					
		GOIÁS			
109 — Formosa	+				
		BAHIA			
110 — Angical	—	—			
111 — Barra		—			
112 — Barreiras	—	—		—	
113 — Bom Jesus da Lapa					
114 — Brotas de Macaubas					
115 — Caetité					
116 — Campo Formoso	—				
117 — Carinhanha			—		
118 — Casa Nova		—			
119 — Correntina		—			
120 — Cotegipe	—	—			
121 — Curaçá		—			—
122 — Glória					
123 — Guanambi					
124 — Ibipetuba	—	+			
125 — Ibitiara					
126 — Irecê					
127 — Jacaraci					
128 — Jacobina	+			—	
129 — Jaguarari					
130 — Jeremoabo					
131 — Juàzeiro				—	—
132 — Macaubas		—			
133 — Morro do Chapéu					
134 — Oliveira dos Brejinhos		—			
135 — Palmas de Monte Alto					
136 — Paramirim		—			
137 — Paratinga		—			—
138 — Pilão Arcado	—	—			
139 — Remanso					—
140 — Riacho de Santana					
141 — Santa Maria da Vitória		—			
142 — Santana					
143 — Santo Inácio		—			
144 — Saúde	—				
145 — Seabra					
146 — Senhor do Bonfim	—				

MUNICÍPIOS	P. megistus	T. sordida	T. infestans	T. maculata	T. brasiliensis
BAHIA (conclusão)					
147 — Santo Sé					—
148 — Uauá					
149 — Urandi					
150 — Xique-Xique		+			
PERNAMBUCO					
151 — Afogados da Inglaterra	—			—	—
152 — Águas Belas					
153 — Araripina					
154 — Arcoverde					—
155 — Bodocó					
156 — Bom Conselho	—				
157 — Buíque					
158 — Cabrobó					
159 — Coripós					—
160 — Custódia				—	—
161 — Exu	—				
162 — Flores					
163 — Floresta					
164 — Garanhuns					
165 — Inajá					—
166 — Jatinã					—
167 — Manicoba					
168 — Ouricuri				—	—
169 — Paramirim					—
107 — Pedra					
171 — Pesqueira					
172 — Petrolândia					
173 — Petrolina		—		—	—
174 — Salgueiro					
175 — São José do Egito	—	—			—
176 — Serra Talhada					
177 — Serrita					
178 — Sertânia	—				—
179 — Tabira					
180 — Triunfo				—	
ALAGOAS					
181 — Água Branca					
182 — Arapiraca					
183 — Batalha					
184 — Coruripe					
185 — Igreja Nova					
186 — Limoeiro dd Anádia					
187 — Mata Grande	+			+	+
188 — Palmeira dos Índios					—
189 — Pão de Açúcar					
190 — Penedo					
191 — Piassabussu					
192 — Piranhas					
193 — Pôrto Real do Colégio					
194 — Santana de Ipanema					
195 — São Brás					
196 — Traipu					
SERGIPE					
197 — Aquidabã					
198 — Canhoba					
199 — Darcilena					
200 — Gararu					
201 — Japaratuba					
202 — Japoatã					
203 — Muribeca					
204 — Neópolis					
205 — Nossa Senhora da Glória					
206 — Parapitinga					
207 — Pôrto da Fôlha					
208 — Propriá					

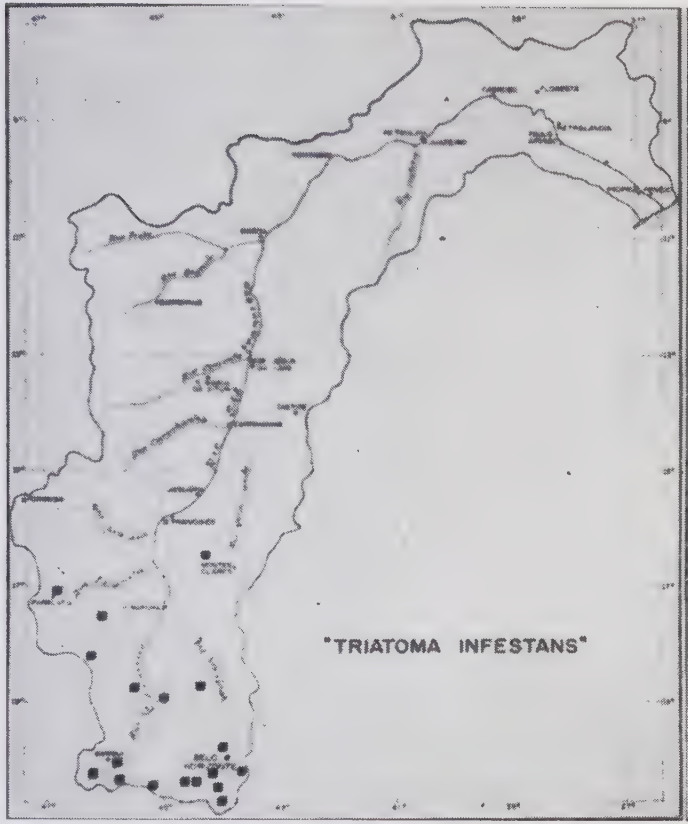
OBSERVAÇÃO — P. megistus — sem discriminação de cidade — 1 caso (—).



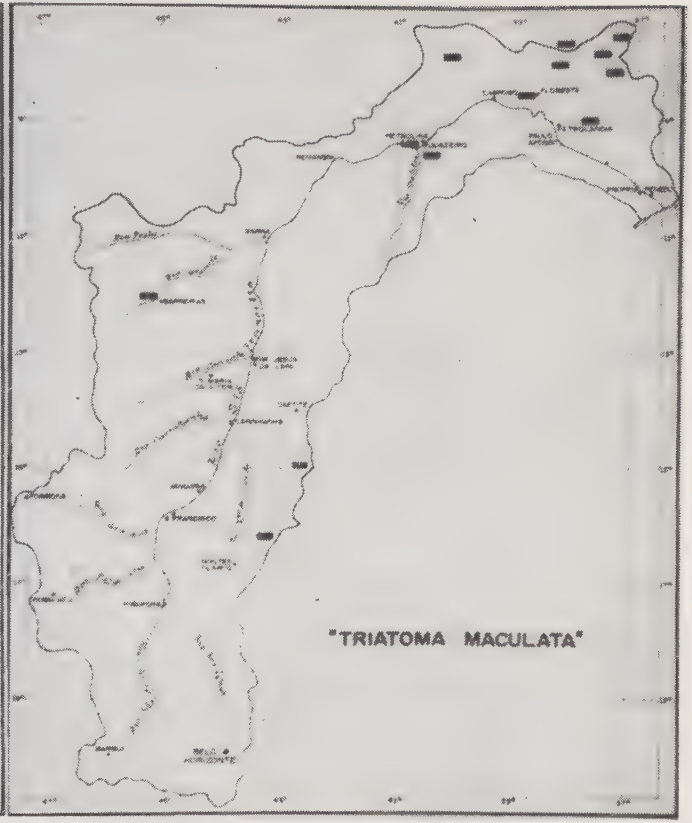
MAPA 1



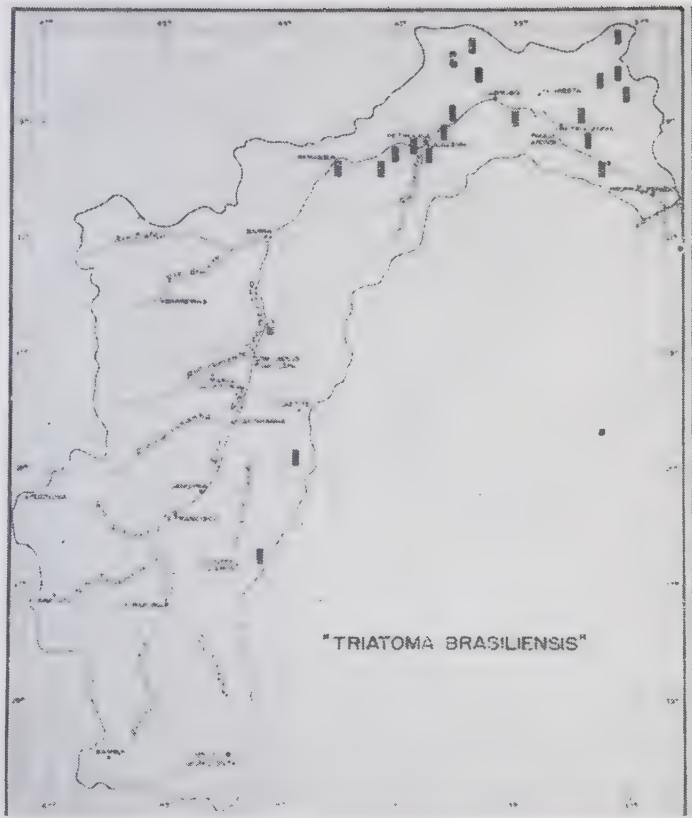
MAPA 2



MAPA 3



MAPA 4


"TRIATOMA BRASILIENSIS"

MAPA 5

VETORES DA DOENÇA
DE CHAGAS - JULHO de 1956
C O N V E N Ç Õ E S
REGIÕES COM TRIATOMÍNEOS
NEGATIVOS OU NÃO EXAMINADOS
REGIÕES COM TRIATOMÍNEOS INFESTADOS
COM O SCHIZOTRYPANUM CRUZI

MAPA 6

Alqumas Medidas Microclimáticas, em Mata da Região "Bromélia-Malária", em Santa Catarina, Brasil (*)

I - Temperatura do ar, umidade relativa e evaporação.

Mario B. Aragão
(Instituto Nacional de Endemias Rurais)

Em 1948, já esclarecido o problema da transmissão da malária, no litoral sul do Brasil, e coletada boa soma de informações sôbre a biologia dos anofelinos do subgênero *Kerteszia* (1), os Diretores do Serviço Nacional de Malária e do Instituto Oswaldo Cruz, na época Drs. Mário Pinotti e Henrique de Beaurepaire Aragão, acertaram um plano de colaboração entre as duas instituições, com o fim de ampliar o campo dessas pesquisas que, até o momento, vinham sendo desenvolvidas quase exclusivamente, por entomologistas. Dêsse entendimento resultou a instalação de um centro de estudos, na cidade de Brusque, em Santa Catarina, que passou a constituir a Seção de Ecologia do Instituto de Malariologia.

Os problemas suscitados pelas capturas de mosquitos e pelos levantamentos da vegetação, fizeram com que fôsse incluído, entre as tarefas dessa equipe, um programa de medidas microclimáticas, a ser realizado na mata pluvial.

As observações foram iniciadas em fevereiro de 1950, com a instalação de uma estação meteorológica, numa colina da cidade de Brusque, e de cinco postos, todos situados abaixo dos arbustos, numa das matas da redondeza. Em 1951, o serviço foi ampliado com a instalação de novos postos, entre os outros estratos dessa mesma comunidade.

No presente trabalho, com a apresentação dos valores da temperatura do ar, da umidade relativa e da evaporação, iniciamos o exame dos dados colhidos durante os dois anos de observação. Com o intuito de fornecer melhores elementos a outros pesquisadores que, porventura, desejem correlacionar êsses dados com observações relativas ao comportamento dos mosquitos, serão mostrados, além das médias e totais mensais, valores obtidos de dia e de noite.

(§) Trabalho complementado sob os auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas e apresentado à IX Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Rio de Janeiro, julho de 1957.

Recebido para publicação, em 19-5-1958.

MATERIAL E MÉTODOS

Para local das observações foi escolhida a comunidade do Hoffmann (Fig. 1), situada, cerca de 5 km do centro da cidade de Brusque, numa propriedade do Sr. Willy Hoffmann localizada junto à estrada que dá acesso a Itajaí.

Figura 1

Há cêrca de trinta anos funcionou, às custas dessa mata, uma serraria, porém, como é hábito na região, só foram derrubadas as árvores capazes de fornecer toras. Atualmente, não se nota mais vestígio da intervenção humana e os levantamentos fitossociológicos mostraram que a comunidade está em equilíbrio (2). Entretanto, os postos do vale foram instalados num trecho de mata secundária, já quase reconstituída.

O terreno é bastante acidentado, o que permitiu localizar as estações, próximas umas das outras, em zonações com bastante contraste (Fig. 2).

Nos gráficos e nas tabelas, como consta da lista abaixo, os postos serão designados pelas letras adotadas por Veloso (3) para descrever a vegetação, às quais se acrescentaram índices. A letra indica a zonação onde o posto está localizado e o índice, sua posição com referência aos estratos da mata, (Fig. 3).

Durante o decorrer dos trabalhos, foram instaladas as seguintes estações, que tiveram períodos de funcionamento variáveis:

I — Colina, dentro da cidade. De II/50 a XII/51.

A_1 — Vale, acima das copas das árvores. De V/51 a XII/51.

A_4 — Vale, abaixo dos arbustos. De III/50 a XII/51.

B_2 — Encosta, entre as árvores e as arvoretas. De IV/51 a XII/51.

B_3 — Encosta, entre as arvoretas e os arbustos. De IV/51 a XII/51.

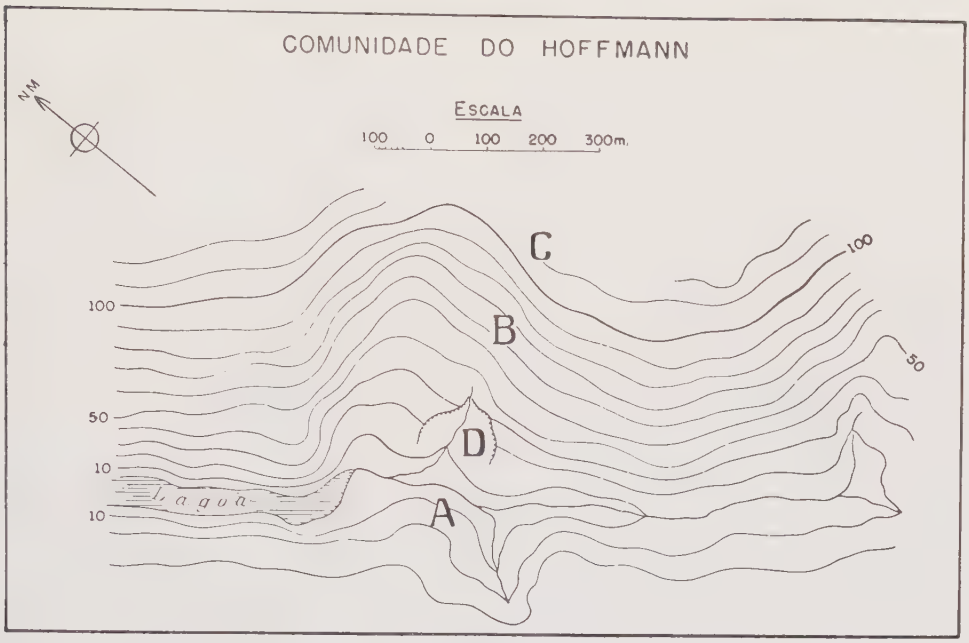


Figura 2

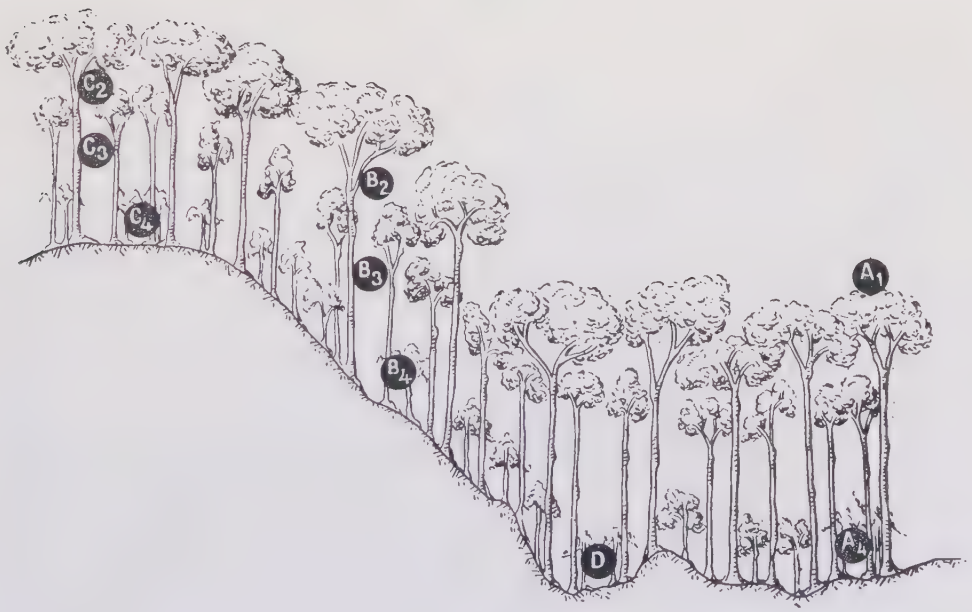


Figura 3

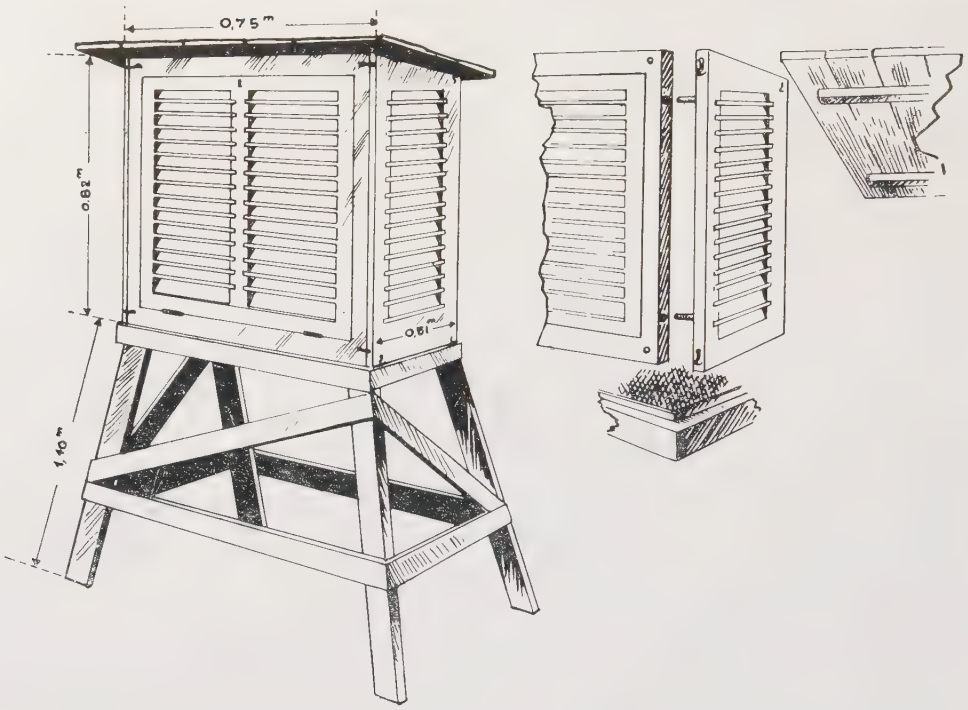


Figura 4

INSOLAÇÃO

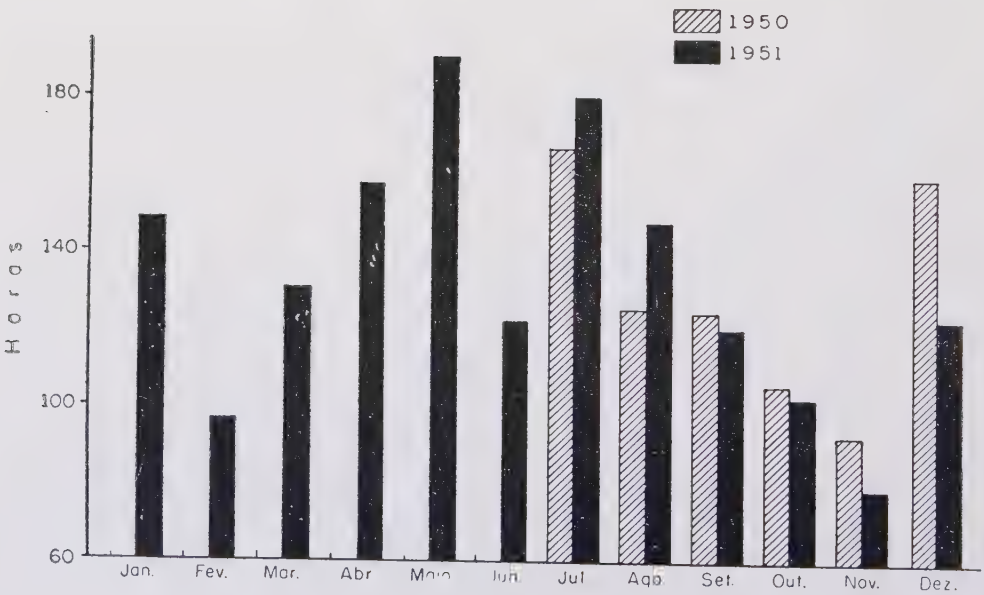


Figura 5

B_4 — Encosta, abaixo dos arbustos. De II/50 a XII/51.
C_2 — Alto da elevação, entre as árvores e as arvoretas. De I/51 a XII/51.
C_3 — Alto da elevação, entre as arvoretas e os arbustos. De I/51 a XII/51.
C_4 — Alto da elevação, abaixo dos arbustos. De II/50 a XII/51.
D — Depressão, abaixo dos arbustos. De II/50 a IV/51.

Dificuldades de ordem material impediram a instalação de quatro postos em cada uma das zonações.

Os postos da mata dispunham do seguinte material:

1 — Abrigo construído de acôrdo com a planta utilizada pelo Ministério da Aeronáutica, porém, desmontável e sem o ventilador (Fig. 4). Foram introduzidas essas modificações afim de facilitar as limpezas e pinturas periódicas, que se faziam necessárias devido à elevada umidade existente em alguns pontos da mata.
2 — Termômetro de máxima "Fuess". (§)
3 — Termômetro de mínima "Fuess".
4 — Psicrômetro não ventilado, munido de Termômetros "Kimble" graduados de -15 a 60°C.
5 — Evaporímetro "Piche", sem marca.
6 — Termohigrógrafo "S.I.A.P." ou barotermohigrógrafo "Luft".
7 — Anemômetro "Casella". (§§)
8 — Psicrômetro de funda, feito com termômetro "Kimble" graduados de -15 a 60°C.

A estação situada dentro da cidade possuia abrigo ventilado e mais o seguinte material:

9 — Pluviômetro "Vile de Paris", sem marca.
10 — Pluviógrafo "S.I.A.P.".
11 — Heliógrafo "Negretti & Zambra"

Aí, também, eram feitas as observações da nebulosidade, do "tempo passado" e do "tempo presente", que eram registradas de acôrdo com os códigos em vigor, para as observações sinóticas (4).

As observações eram feitas no horário adotado pela Rêde Climatológica do Serviço de Meteorologia, isto é, 9, 15 e 21 horas, hora local (12, 18, e 24 h. T.C.G.). Entretanto, na mata, por dificuldades materiais, êsse horário não pôde ser rigorosamente obedecido. O trabalho tinha de ser feito por um único homem, que começava, no alto da elevação, meia hora antes do horário estipulado e terminava, no vale, meia hora depois. Êsse espaço de tempo foi sempre suficiente, sendo raros os atrasos superiores a 10 minutos.

(§) Os termômetros e os anemômetros foram comparados com os padrões do Serviço de Meteorologia.

(§§) Para os postos de cada tôrre era usado o mesmo anemômetro e o psicrômetro de funda era conduzido pelo observador, servindo a todos os postos.

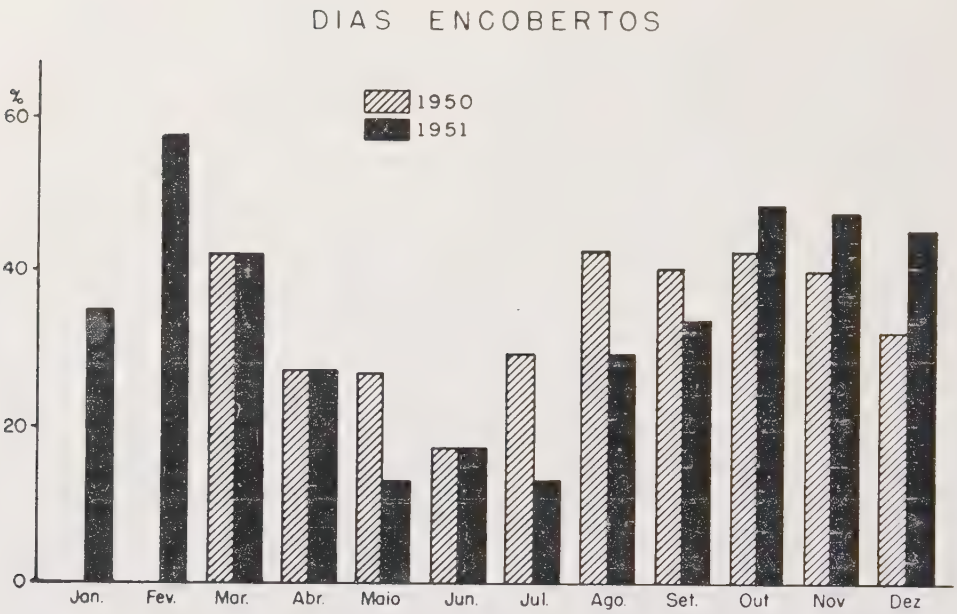


Figura 6 a

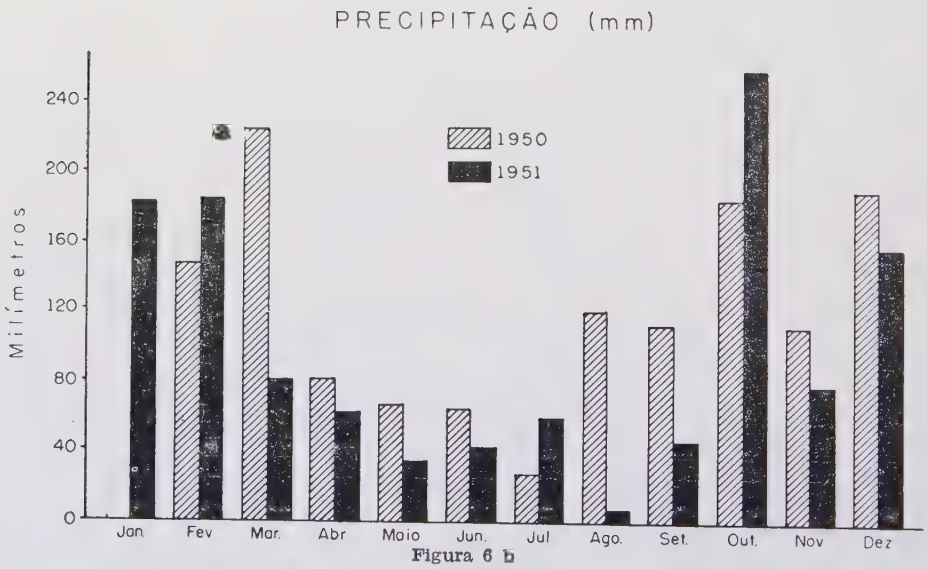


Figura 6 b

A impossibilidade de realizar as observações, em todos os postos, no mesmo momento, viciou bastante os dados colhidos durante o dia, e alguns dêles tiveram de ser abandonados. Entretanto, as observações feitas à noite, quando a variação dos elementos atmosféricos é lenta, parecem bastante boas. Os valores médios também não foram muito afetados, porquanto, o êrro introduzido na leitura da parte da manhã é oposto ao que se verifica à tarde.

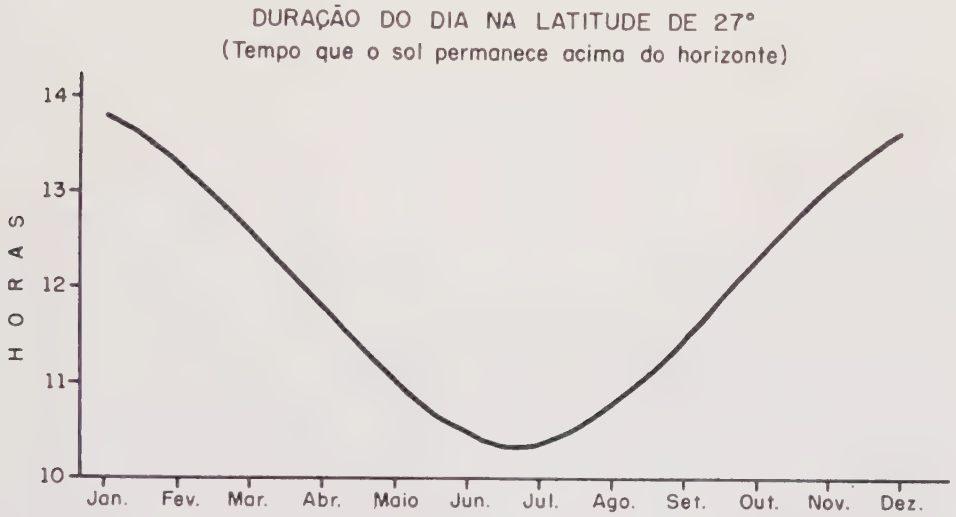


Figura 7

Como as diferenças observadas entre os diversos postos são, por vêzes, bastante grandes, foi possível, apesar dêsses erros, analisar os dados e tirar conclusões. Muitas dessas conclusões, assim como a eliminação de muitos dados, foram feitas com base nos valores das temperaturas extremas, que são dados precisos. Entretanto, essas médias das temperaturas máximas e mínimas só serão apresentadas, quando se tornarem indispensáveis à compreensão de qualquer fenômeno. Seu estudo será feito com mais detalhe, em outra nota. Os dados aqui utilizados são todos de leituras instantâneas e as temperaturas foram obtidas com psicrômetro ventilado. As leituras feitas com termômetros não ventilados serviram, no presente trabalho, apenas para contrôle de erros grosseiros.

Para o cálculo da média mensal da temperatura do bulbo úmido, foram somadas, as médias das três horas de observação e divididas por três, e para o da temperatura do ar, a média das observações de 21 horas foi multiplicada por dois e o total dividido por quatro (5). Os valores da umidade relativa foram obtidos, a partir dessas médias, com um ábaco oferecido pelo Serviço de Meteorologia e de autoria do Dr. Durval Calheiros Gomes.

Os dados de evaporação referem-se aos totais mensais, expressos em milímetros. Chamou-se de evaporação diurna, à diferença entre as leituras de 21 horas e de 9 horas do mesmo dia, e de evaporação noturna, à diferença entre as leituras de 9 horas do dia e de 21 horas da véspera.

No gráfico da insolação (Fig. 5), estão assinalados os totais mensais do número de horas em que a radiação solar foi suficiente para queimar a tira do heliógrafo. Essas medidas só foram iniciadas em julho de 1950, quando foi recebido o instrumento.

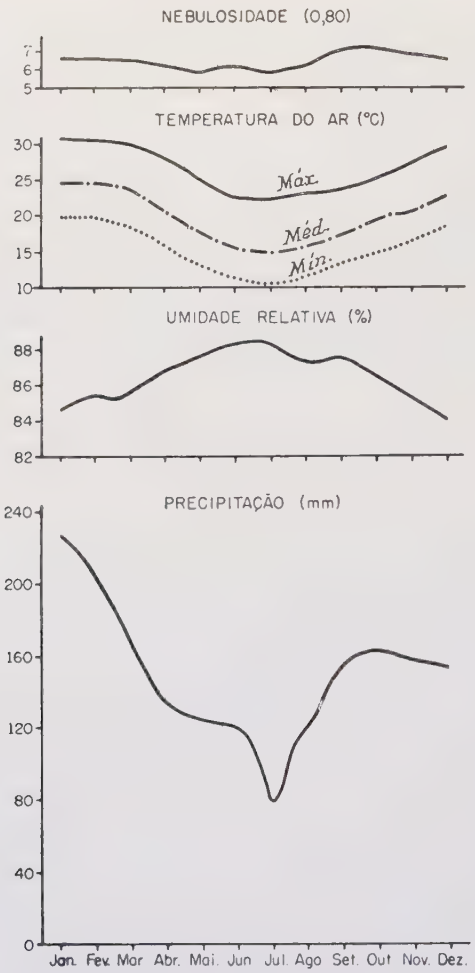


Figura 8 — Normais Climatológicas da Estação de Brusque (Lat. 27° 06', Long. 48° 56', Alt. 24 m)

Chamou-se de dias encobertos (Fig. 6 a), àqueles em que nas três observações do "tempo passado" (estado do tempo entre duas observações consecutivas) foi anotado número do código igual ou superior a 2.

Êsse número designa "céu muito nublado ou encoberto", e acima dêle estão classificados o nevoeiro e os diversos tipos de precipitação. No gráfico, o número de dias está expresso em percentagem mensal.

A duração do dia, na latitude de Brusque (27°) (Fig. 7), foi calculada com as tabelas do Observatório Nacional (6).

As normais climatológicas da Estação de Brusque (Fig. 8), foram copiadas dos arquivos do Serviço de Meteorologia.

Serão apresentadas as médias dos valores da temperatura do ar e da umidade relativa durante todo o dia e, também, as médias das observações feitas à tarde (15 horas) e à noite (21 horas). Não foram feitos gráficos com os totais mensais da evaporação, porque as curvas são bastante semelhantes às da evaporação diurna.

Os dados serão apresentados na seguinte ordem:

1 — Médias tomadas ao ar livre e dentro da mata, nos dois anos de observação.

2 — Valores obtidos nas diversas zonações (alto da elevação, meia encosta e vale), nos postos situados abaixo dos arbustos e nos instalados entre as árvores e as arvoretas. Os dados colhidos entre os arbustos e as arvoretas só constam das tabelas. Não estão incluídos nos gráficos porque, na maioria das vêzes, foram intermediários aos tomados no estrato superior e no inferior.

3 — Valores obtidos entre as árvores e as arvoretas e abaixo dos arbustos, em cada uma das zonações separadamente.

APRESENTAÇÃO DOS DADOS

Temperatura do ar

Médias compensadas (Tabela I)

Gráficos 1 e 2

A temperatura média foi, sempre, mais elevada ao ar livre do que sob os arbustos da mata, salvo nos meses mais frios de 1951 quando, no alto da elevação, os valores pràticamente igualaram os tomados na cidade, chegando mesmo a ultrapassá-los, em julho. Por sua vez a depressão foi, durante todo o período, o ponto mais frio. Vê-se, também, que, mesmo em valores médios, podem aparecer diferenças grandes entre dois postos próximos e situados à mesma altura, em relação ao solo.

Gráfico 3

Na colina da cidade, onde o solo era revestido por gramíneas rasteiras, as médias foram sempre mais elevadas do que no vale, acima das copas das árvores. Aí, por sua vez, a temperatura estêve sempre mais alta do que sob os arbustos.

I

TEMPERATURA DO AR (MÉDIAS COMPENSADAS)

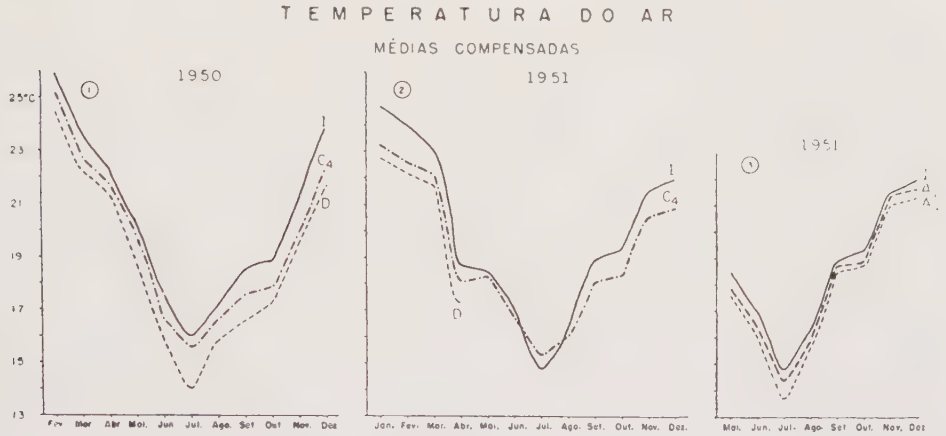
1950

Pôsto \ Mês	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
I	–	25,9	23,6	22,3	20,2	17,6	16,0	17,2	18,5	18,8	21,1	23,8
A_4	–	–	23,0	22,1	19,2	16,5	14,8	16,7	17,5	18,0	20,2	22,3
B_4	–	25,3	22,4	21,6	19,1	16,4	15,1	16,6	17,4	17,9	20,1	22,4
C_4	–	25,2	22,7	21,7	19,6	16,6	15,6	16,7	17,6	17,9	19,9	22,3
D	–	24,5	22,2	21,3	18,6	15,8	14,0	15,9	16,6	17,3	19,6	21,7

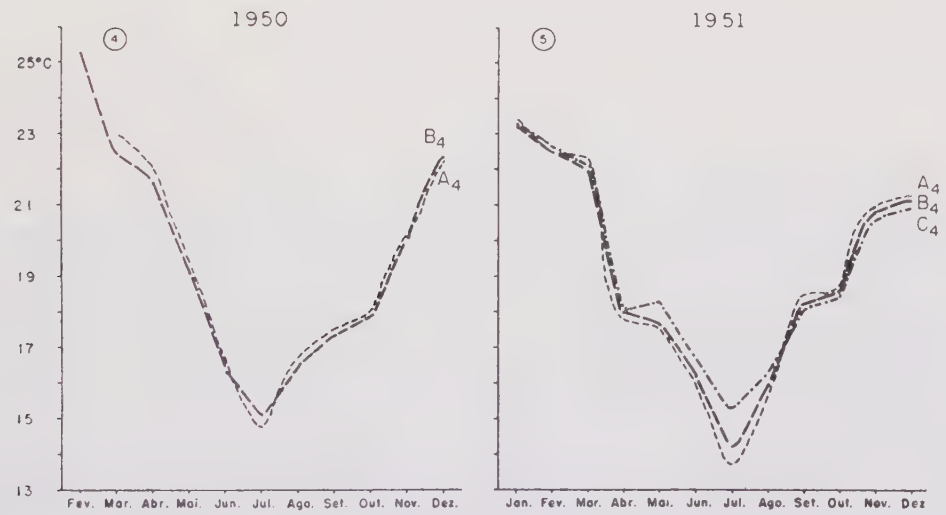
1951

Pôsto \ Mês	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
1	24,7	24,0	23,0	18,7	18,5	17,0	14,8	16,3	18,9	19,3	21,5	22,0
A_1	-	-	-	-	17,9	16,4	14,4	15,9	18,7	18,9	21,4	21,6
A_4	23,4	22,5	22,3	17,8	17,6	16,0	13,7	15,7	18,5	18,7	21,0	21,3
B_2	-	-	-	18,3	18,2	16,7	14,9	16,2	18,6	18,7	21,0	21,5
B_3	-	-	-	18,1	17,9	16,3	14,5	16,1	18,4	18,6	21,0	21,4
B_4	23,3	22,5	22,0	18,0	17,6	16,2	14,2	15,9	18,2	18,5	20,8	21,2
C_2	23,7	23,0	22,5	18,5	18,6	17,1	15,7	16,5	18,4	18,7	20,9	21,4
C_3	23,4	22,9	22,3	18,3	18,4	17,0	15,5	16,4	18,2	18,6	20,8	21,2
C_4	23,3	22,6	22,1	18,1	18,3	16,7	15,3	16,2	18,1	18,4	20,6	20,9
D	22,8	22,2	21,7	17,3	-	-	-	-	-	-	-	-

TABELA I



Gráficos 1, 2 e 3



Gráficos 4 e 5

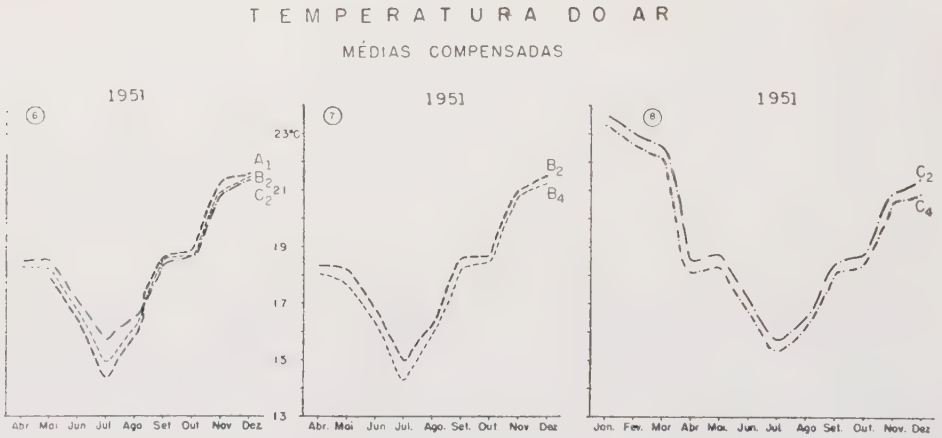
Gráficos 4 e 5

Entre as médias da temperatura do ar, tomadas sob os arbustos, das três zonações da mata, pràticamente não houve diferença durante o ano de 1950. A curva do alto da elevação não foi traçada porque, na maior parte do período, se superpõe às outras.

Já em 1951, as médias foram bastante influenciadas, nos meses frios, pela inversão noturna, entretanto, no fim do ano, a predominância da estratificação normal foi nítida. Essa troca na distribuição dos valores médios deve resultar da conjugação de dois fatores: inversão noturna mais acentuada e noites mais compridas, no inverno. Nas médias dessa época predomina o caráter da temperatura noturna, ao contrário do que acontece no verão.

A comparação dêses gráficos com os anteriores mostra que, sob os arbustos da encosta e do vale, foi sempre mais frio do que na cidade.

Gráfico 6



Gráficos 6, 7 e 8

Examinando-se os dados dos postos situados entre as árvores e as arvoretas nota-se que, de maio a agôsto, houve uma inversão semelhante à observada abaixo dos arbustos, porém, menos acentuada. Daí em diante, as diferenças foram muito pequenas, tendo, o pôsto A_1, sido o mais frio. A posição do pôsto A_1, acima das copas das árvores, não prejudica a comparação pois, nessa zonação (Gráfico 3), as temperaturas decrescem de cima para baixo.

Gráficos 7 e 8

Como já foi visto em relação ao vale, também na encosta e no alto da elevação, a temperatura média foi sempre mais elevada nos estratos superiores do que nos inferiores.

Média das observações de 15 e 21 horas (Tabela II e III)

Gráficos 9, 10 e 11

A temperatura de 15 horas foi sempre mais elevada ao ar livre e mais baixa na depressão. Entretanto, à noite, apesar de êsse pôsto (D)

TEMPERATURA DO AR (MÉDIAS MENSAIS)

II

1950

Observação das 15 horas (18 h. T.C.G.)

Mês / Pôsto	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
1	-	27,7	27,2	25,8	24,2	22,0	20,7	21,2	22,0	21,7	24,2	27,1
A_4	-	-	25,1	23,9	21,8	19,9	18,8	19,9	21,0	20,7	22,7	25,2
B_4	-	26,2	24,7	23,6	21,6	19,1	18,1	19,4	20,8	20,6	22,8	25,7
C_4	-	26,2	24,8	23,9	22,1	19,6	18,7	19,6	20,7	20,1	22,2	25,3
D	-	25,1	23,7	22,6	20,1	18,0	16,3	17,9	18,8	19,1	21,5	24,1

Observação das 21 horas (24 h. T.C.G.)

Mês / Pôsto	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
1	-	23,1	21,9	20,7	18,7	16,4	14,0	15,9	16,6	17,1	19,4	21,7
A_4	-	-	21,5	20,8	18,1	15,4	13,3	15,2	15,6	16,2	18,7	20,6
B_4	-	24,1	21,8	21,2	18,8	15,7	14,6	16,1	16,5	16,8	19,3	21,3
C_4	-	23,9	22,1	21,4	19,3	15,9	15,3	16,2	16,8	17,2	19,3	21,3
D	-	23,8	21,5	20,8	18,4	15,2	13,4	15,3	15,8	16,3	18,8	20,7

TABELA II

TEMPERATURA DO AR (MÉDIAS MENSAIS)
1951

III

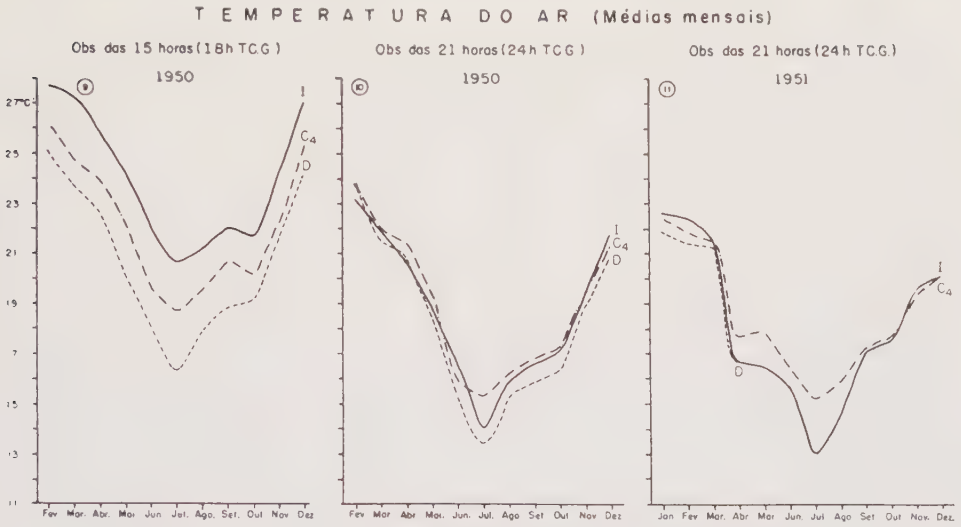
Observação das 15 horas (18 h. T. C. G.)

Mês / Posto	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
I	28,5	27,1	26,4	23,4	24,1	21,8	21,5	21,6	23,5	23,1	24,7	25,2
A_1	-	-	-	-	22,8	20,8	20,1	20,9	23,9	22,6	24,7	25,2
A_4	26,4	24,6	24,7	21,2	22,0	19,9	19,3	20,5	23,4	22,4	24,1	24,3
B_2	-	-	-	22,0	22,5	20,3	20,2	20,8	23,1	22,4	24,5	24,7
B_3	-	-	-	21,7	21,9	19,8	19,5	20,4	22,9	22,3	24,4	24,6
B_4	26,6	24,6	24,5	21,3	21,2	19,2	18,6	19,7	22,4	21,9	23,9	24,2
C_2	27,1	25,6	25,3	22,0	22,6	20,3	20,0	20,3	22,5	22,0	24,1	24,4
C_3	26,8	25,4	25,0	21,7	22,3	20,1	19,7	20,3	22,4	21,8	23,8	24,1
C_4	26,3	24,9	24,5	21,1	21,8	19,6	19,2	19,8	22,1	21,4	23,4	23,5
D	25,1	23,8	23,4	19,7	-	-	-	-	-	-	-	-

Observação das 21 horas (24 h. T. C. G.)

Mês / Pôsto	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
I	22,6	22,4	21,5	16,7	16,5	15,7	13,0	14,6	17,1	17,5	19,6	20,1
A_1	–	–	–	–	15,8	14,7	12,1	13,8	16,5	16,8	19,4	19,7
A_4	21,8	21,3	21,2	16,2	15,6	14,5	11,8	13,7	16,4	16,7	19,3	19,8
B_2	–	–	–	17,4	17,3	16,0	14,0	15,2	17,3	17,4	19,5	20,3
B_3	–	–	–	17,2	17,0	15,5	13,7	15,1	17,1	17,3	19,5	20,2
B_4	22,3	21,8	21,4	17,2	16,7	15,6	13,5	15,0	17,0	17,3	19,5	20,2
C_2	22,6	22,2	21,8	17,9	18,1	16,8	15,5	16,2	17,3	17,8	19,7	20,5
C_3	22,4	22,2	21,7	17,8	17,9	16,7	15,3	16,0	17,2	17,7	19,6	20,3
C_4	22,4	21,9	21,5	17,7	17,9	16,5	15,2	15,9	17,2	17,6	19,4	20,1
D	21,9	21,4	21,3	16,7	–	–	–	–	–	–	–	–

TABELA III

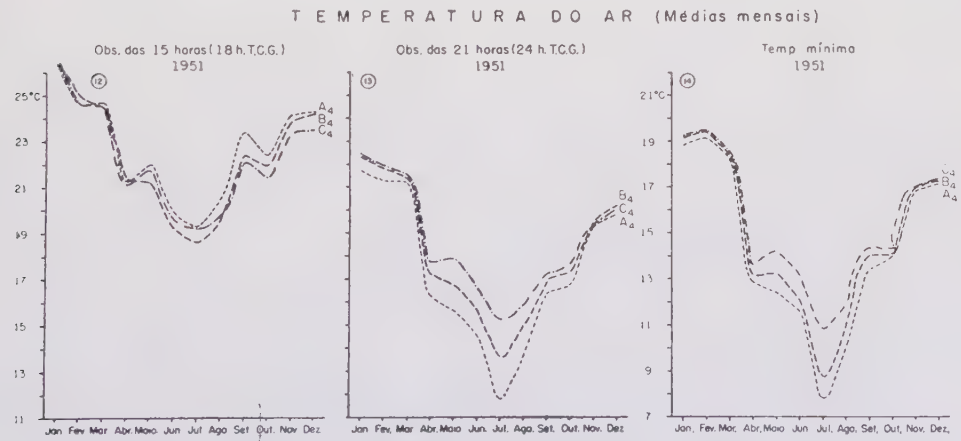


Gráficos 9, 10 e 11

ser geralmente o mais frio, houve meses em que os seus valores igualaram os da cidade. Enquanto em 1950, só no inverno as temperaturas de 21 horas foram, na cidade, mais baixas do que sob os arbustos do alto da elevação, em 1951, êsse fato ocorreu desde o outono.

Gráficos 12, 13 e 14

De janeiro a abril, a temperatura tomada à tarde, sob os arbustos, foi, nas três zonações, mais ou menos a mesma. Daí em diante o vale foi sempre mais quente seguido, até agôsto, do alto da elevação que, de setembro em diante, passou a ser o local mais frio.

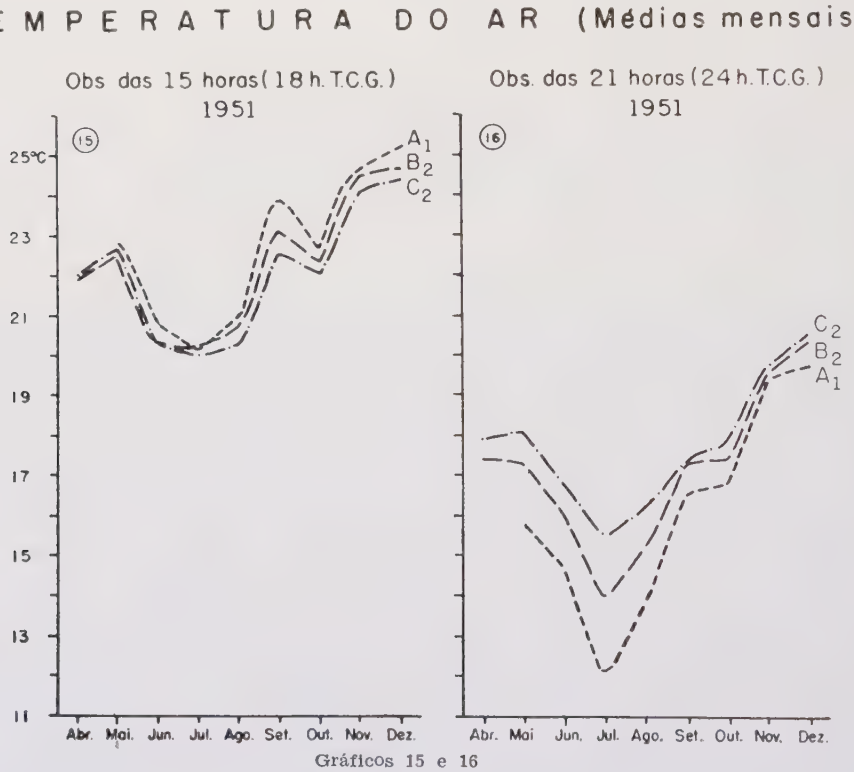


Gráficos 12, 13 e 14

Na observação de 21 horas, o vale foi o ponto mais frio da mata e, a não ser nos meses mais quentes, a inversão atingiu tôdas as zonações. No gráfico 14, em que estão as temperaturas mínimas, vê-se que essa distribuição permanece a mesma durante tôda a noite. Nota-se, também, que apesar da proximidade, 200 m de distância e 50 m de desnível, a diferença entre as médias das mínimas, da encosta e do alto da elevação, ultrapassou a 2°C, em julho de 1951.

Gráficos 15 e 16

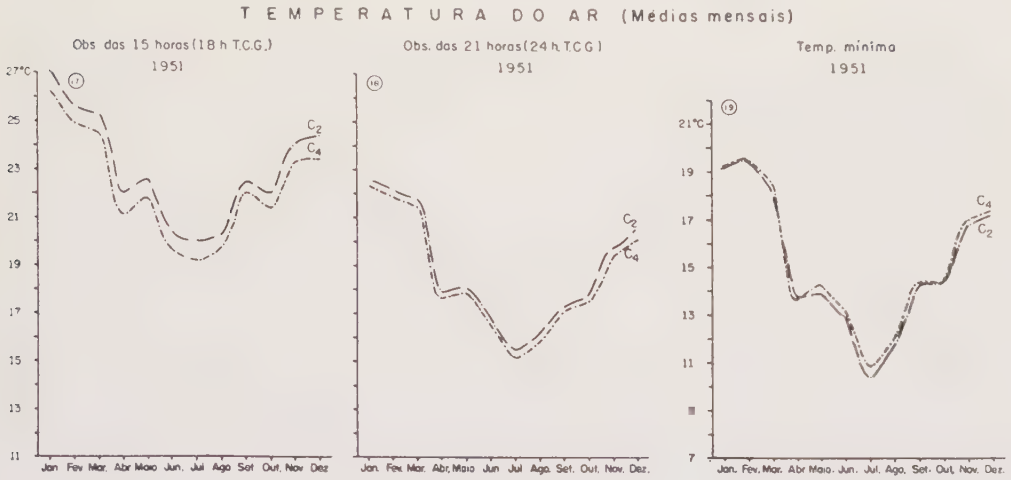
A distribuição das temperaturas, tomadas entre as árvores e as arvoretas, foi semelhante à observada abaixo dos arbustos, com a única diferença de que a inversão noturna manteve-se nítida, até o fim do ano. As curvas do gráfico 24 mostram que o pôsto A_1 deve apresentar valores pràticamente iguais aos correspondentes à camada em estudo.



Gráficos 15 e 16

Gráficos 17, 18 e 19

As temperaturas observadas à tarde e à noite, no alto da elevação, foram sempre mais elevadas nos estratos superiores do que nos inferio-

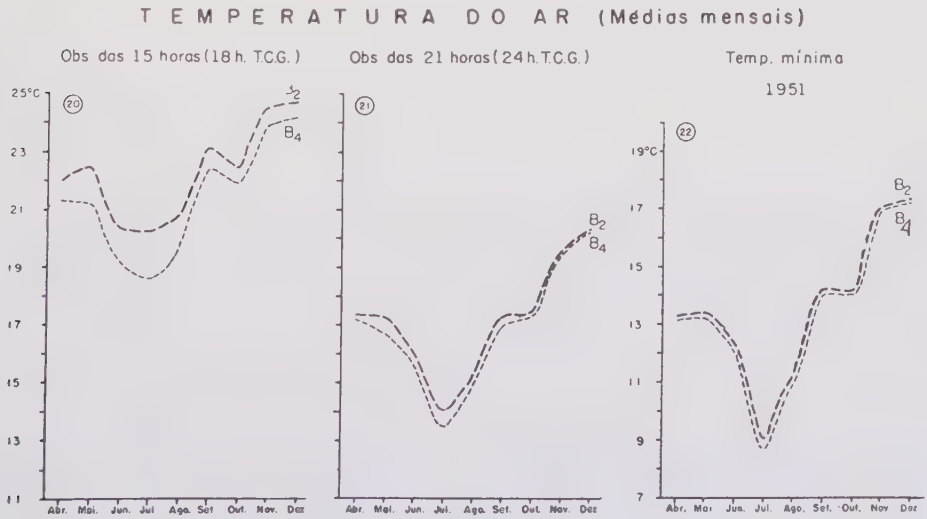


Gráficos 17, 18 e 19

res. De madrugada porém, na hora em que se registra a temperatura mínima, entre as árvores e as arvoretas foi, na maior parte do ano, mais frio do que sob os arbustos.

Gráficos 20, 21 e 22

Na meia encosta, a temperatura foi sempre mais elevada, nos estratos superiores do que nos inferiores, a não ser, na observação da noite, durante o período que foi de outubro a dezembro.



Gráficos 20, 21 e 22

IV

UMIDADE RELATIVA (MÉDIAS MENSAIS)

1950

Pôsto \ Mês	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
1	-	80	87	90	88	88	84	87	82	85	83	82
A_4	-	-	91	98	98	98	96	95	95	94	91	93
B_4	-	90	91	94	94	96	90	94	90	92	88	90
C_4	-	90	90	93	88	92	88	89	84	88	86	85
D	-	88	94	98	99	96	96	98	98	98	96	96

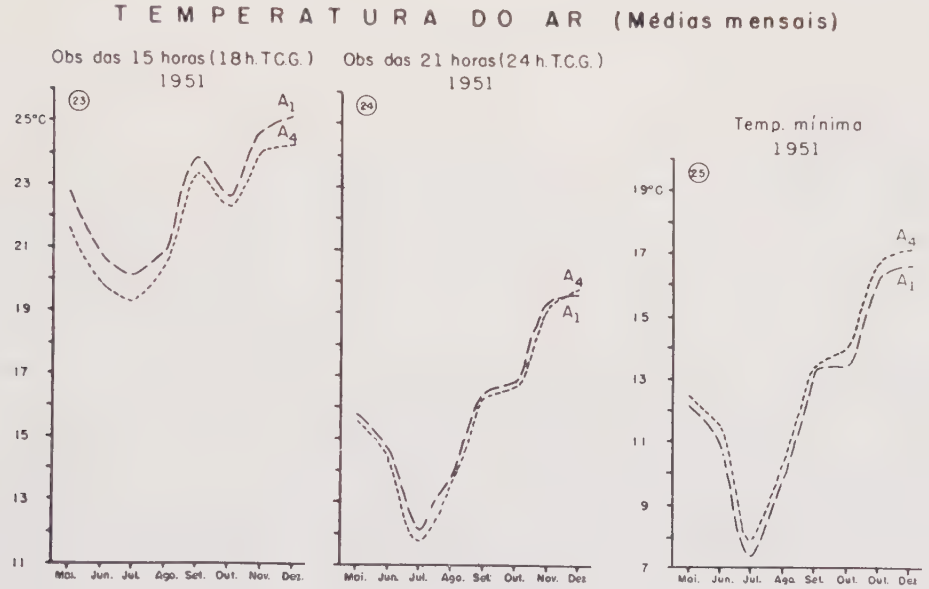
1951

Pôsto \ Mês	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
1	82	86	86	82	84	86	84	80	82	82	84	80
A_1	-	-	-	-	90	92	88	85	86	86	86	84
A_4	94	98	96	93	92	95	93	87	90	90	90	86
B_2	-	-	-	85	85	88	82	83	84	84	86	81
B_3	-	-	-	87	85	90	86	83	86	85	86	82
B_4	92	95	94	89	90	93	87	85	88	87	88	84
C_2	83	87	86	82	81	83	77	78	82	81	84	80
C_3	86	87	87	83	82	83	78	78	84	81	84	80
C_4	88	92	88	84	84	87	80	80	85	86	86	82
D	96	98	94	94	-	-	-	-	-	-	-	-

TABELA IV

Gráficos 23, 24 e 25

No vale, tanto à tarde como à noite, as temperaturas mais elevadas foram observadas acima das copas das árvores, local onde, ao contrário, as mínimas foram mais baixas.



Gráficos 23, 24 e 25

Umidade relativa

Médias mensais (Tabela IV)

Gráficos 26 e 27

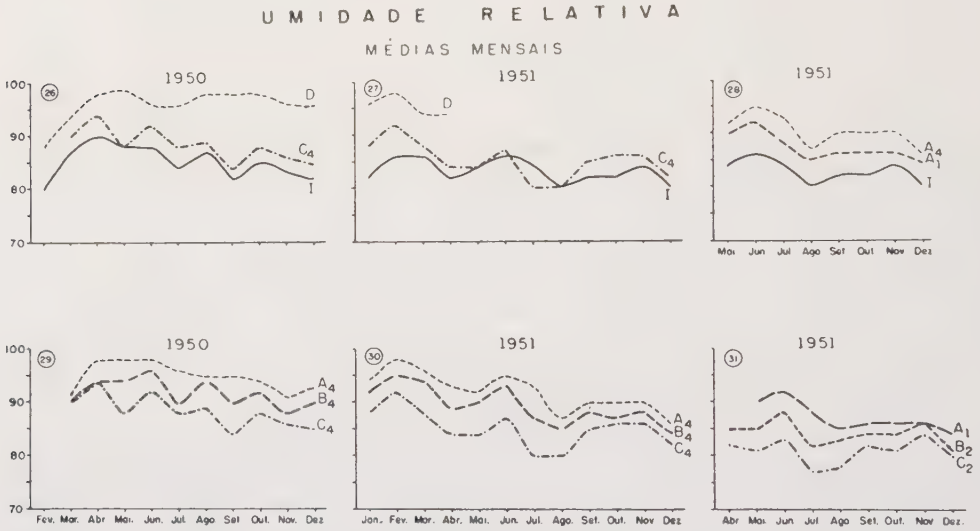
As médias da umidade relativa foram, geralmente, mais baixas ao ar livre do que sob os arbustos da mata. Entretanto, de maio a agôsto de 1951, os valores observados na cidade igualaram ou ultrapassaram os obtidos no alto da elevação. Na depressão, as médias foram sempre muito mais altas e com valores próximos aos da saturação.

Gráfico 28

As médias tomadas acima das copas das árvores, no vale, foram sempre, mais elevadas do que as observadas na colina da cidade. Estão também, nesse gráfico, os valores obtidos sob os arbustos, do mesmo vale, que foram sempre maiores.

Gráficos 29 e 30

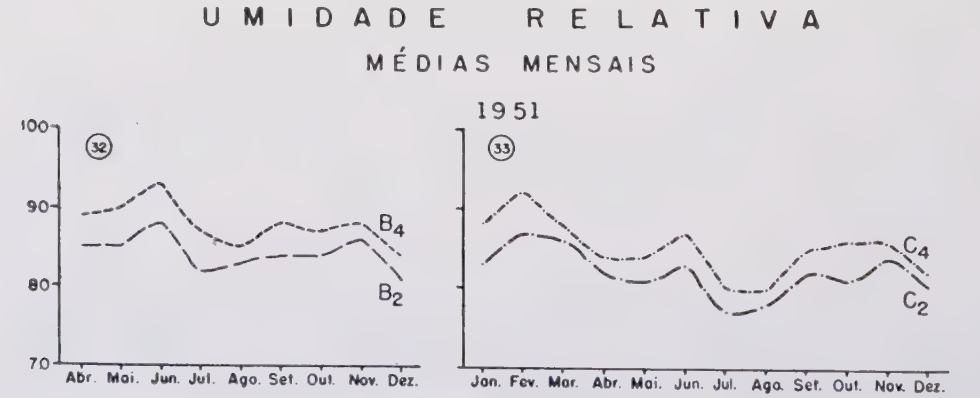
Na camada de ar situada abaixo dos arbustos, a umidade foi sempre maior no alto da elevação e menor, no vale. Comparando-se êsses gráficos com os anteriores vê-se que, salvo em uns poucos meses, a depressão foi sempre o ponto mais úmido.



Gráficos 26, 27, 28, 29, 30 e 31

Gráfico 31

Entre as árvores e as arvoretas, verificou-se a mesma distribuição observada entre os postos situados abaixo dos arbustos. Como foi visto em relação às temperaturas, entre as médias da umidade relativa, as diferenças também foram menores.



Gráficos 32 e 33

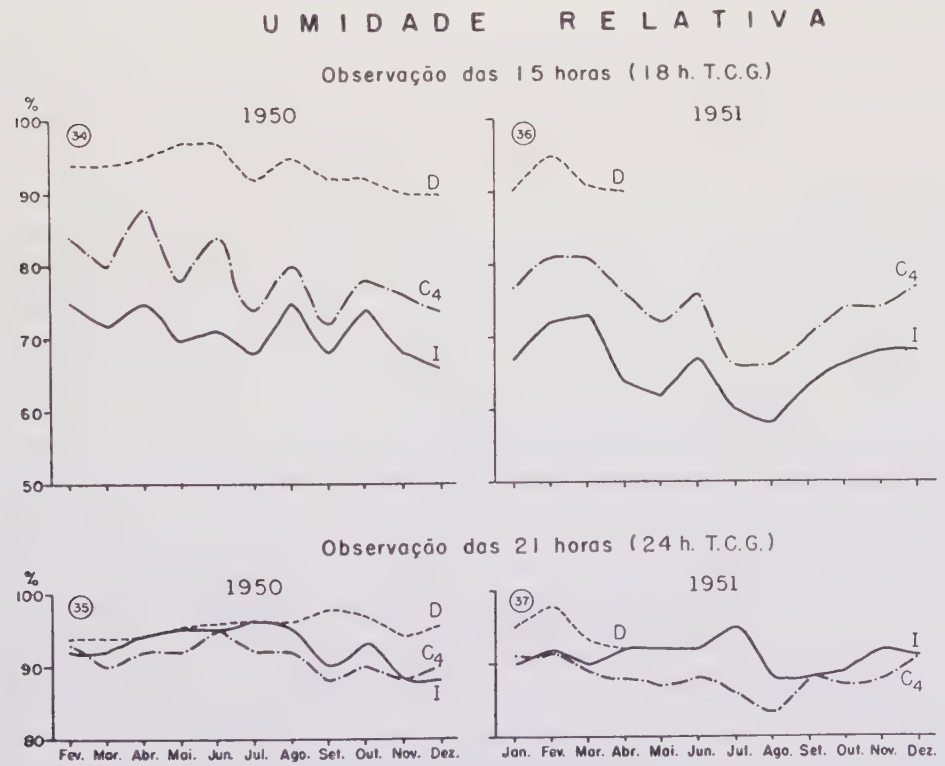
Gráficos 32 e 33

Também na encosta e no alto da elevação, como aconteceu no vale, as médias da umidade relativa foram, nos estratos superiores, menores do que nos inferiores.

Médias das observações de 15 e 21 horas (Tabelas V e VI)

Gráficos 34, 35, 36 e 37

À tarde a umidade é mais elevada, sob os arbustos da mata, do que ao ar livre, sendo que, os valores obtidos na depressão, foram sempre superiores a 90%. À noite os dados registrados no pôsto da cidade foram, em geral, mais elevados do que os obtidos no alto da elevação e, em alguns meses, igualaram os da depressão. Nessa depressão, as variações do estado higrométrico do ar foram pequenas e, em dois meses, as medidas da tarde acusaram valores mais altos do que os obtidos à noite. Não se procedeu à eliminação dêsses dados, porque não foram percebidos, nem erros de cálculo, nem discrepâncias entre as temperaturas, dos bulbos



Gráficos 34, 35, 36 e 37

V

UMIDADE RELATIVA (MÉDIAS MENSAIS) 1950

Observação das 15 horas (18 h. T. C. G.)

Pôsto \ Mês	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
I	-	75	72	75	70	71	68	75	68	74	68	66
A_4	-	-	85	91	88	90	82	85	82	83	82	82
B_4	-	86	87	94	86	92	79	87	80	79	79	76
C_4	-	84	80	88	78	84	74	80	72	78	76	74
D	-	94	94	95	97	97	92	95	92	92	90	90

Observação das 21 horas (24 h. T. C. G.)

Pôsto \ Mês	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
I	-	92	92	94	95	95	96	95	90	93	88	88
A_4	-	-	91	93	95	95	93	95	96	97	92	96
B_4	-	95	93	92	94	95	94	94	92	95	92	92
C_4	-	93	90	92	92	95	92	92	88	90	88	90
D	-	94	94	94	95	95	96	96	98	97	94	96

TABELA V

UMIDADE RELATIVA (MEDIAS MENSAIS)

VI 1951

Observação das 15 horas (18 h. T.C.G.)

Pôsto \ Mês	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
I	67	72	73	64	62	67	60	58	63	66	68	68
A_1	-	-	-	-	73	77	71	67	67	73	75	73
A_4	84	92	88	85	81	84	77	70	71	76	80	80
B_2	-	-	-	74	71	77	65	65	68	71	73	72
B_3	-	-	-	77	75	80	69	65	69	72	73	73
B_4	80	90	87	81	81	86	78	72	74	76	76	76
C_2	72	76	76	70	66	72	62	63	66	70	70	70
C_3	72	77	78	70	67	74	64	62	67	69	71	71
C_4	77	81	81	76	72	76	66	66	70	74	74	77
D	90	95	91	90	-	-	-	-	-	-	-	-

Observação das 21 horas (24 h. T.C.G.)

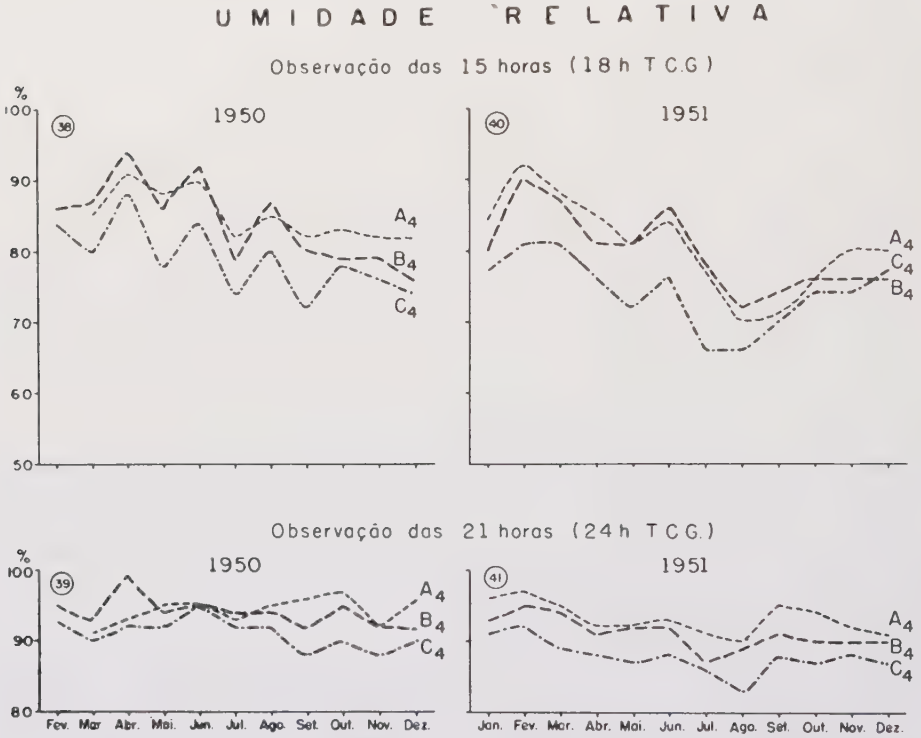
Pôsto \ Mês	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
I	90	92	90	92	92	92	95	88	88	89	92	91
A_1	-	-	-	-	92	93	93	91	91	92	91	91
A_4	96	97	95	92	92	93	91	90	95	94	92	91
B_2	-	-	-	90	90	91	87	89	88	87	90	88
B_3	-	-	-	91	90	89	92	89	90	90	90	89
B_4	93	95	94	91	92	92	87	89	91	90	90	90
C_2	88	88	87	86	86	87	84	82	87	83	86	84
C_3	89	88	88	87	87	87	83	83	88	83	86	84
C_4	91	92	89	88	87	88	86	83	88	87	88	87
D	95	98	93	92	-	-	-	-	-	-	-	-

TABELA VI

sêco e úmido, tomadas com e sem ventilação. É possível que, essa ligeira diminuição da umidade relativa, seja provocada pela substituição do ar retido na depressão pelo que flui, encosta abaixo, nas horas de resfriamento.

Gráficos 38, 39, 40 e 41

Sob os arbustos, tanto de dia como de noite, a zonação mais sêca foi o alto da elevação. Entre a encosta e o vale, as diferenças não foram muito nítidas porém, de uma maneira geral, a primeira foi mais úmida no inverno e a segunda, no verão. À noite, salvo um ou outro mês, o vale foi sempre a zonação mais úmida.



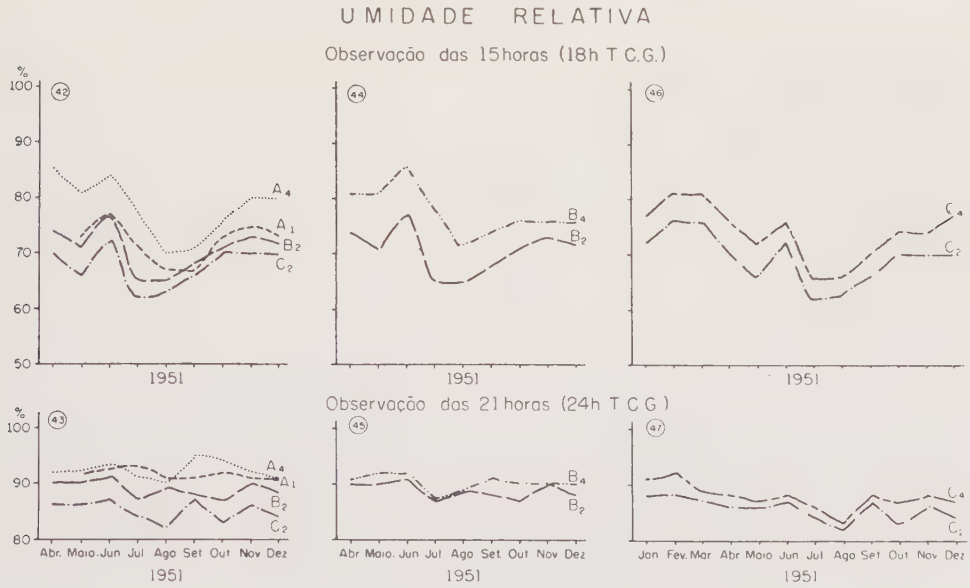
Gráficos 38, 39, 40 e 41

Gráficos 42 e 43

Entre as árvores e as arvoretas, a distribuição da umidade foi um pouco diferente. Durante todo o período de observação, o vale foi o local mais úmido seguido da encosta e do alto da elevação.

Gráficos 44 e 45

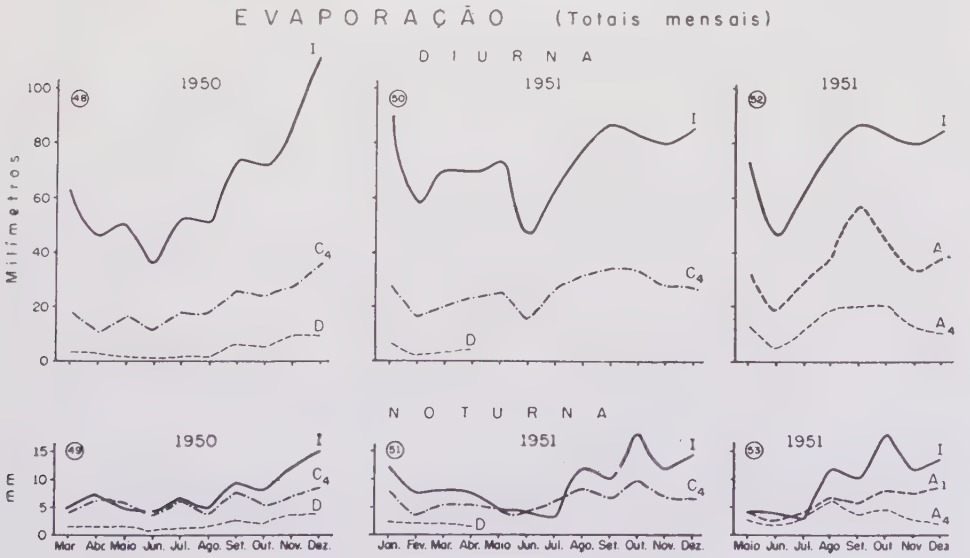
Na encosta, a umidade foi, de dia, mais elevada nos estratos inferiores do que nos superiores, o que, geralmente ocorreu também à noite, a não ser nuns poucos meses em que as médias foram iguais.



Gráficos 42, 43, 44, 45, 46 e 47

Gráficos 46 e 47

No alto da elevação, tanto de dia como de noite, a umidade foi sempre mais elevada sob os arbustos e mais baixa entre as àrvores e as arvoretas.



Gráficos 48, 49, 50, 51, 52 e 53

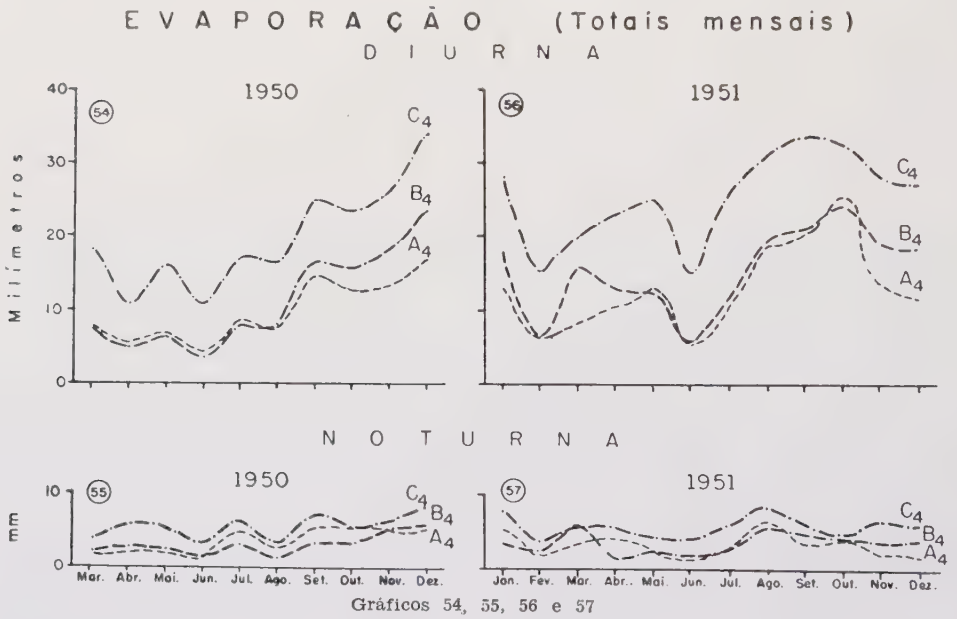
Evaporação (Tabelas VII, VIII e IX)

Gráficos 48(+), 49, 50(+) e 51

De dia, a evaporação foi sempre muito mais elevada na cidade do que sob os arbustos da mata, o que também se verificou durante as noites dos meses quentes. Durante a parte mais fria do ano, os valores da evaporação noturna, registrados ao ar livre, foram pràticamente iguais aos do alto da elevação tendo mesmo, em julho de 1951, sido mais elevados neste local. Na depressão, os valores foram discretos chegando, nos meses frios, a ser quase nulos.

Gráficos 52(+) e 53

A evaporação, na colina da cidade, foi sempre mais elevada do que no vale. Por sua vez, aí nesse local, a evaporação foi mais baixa sob os arbustos. Vê-se também que, nos meses mais frios, os totais da evaporação noturna pràticamente se igualaram.



Gráficos 54, 55, 56 e 57

Gráficos 54, 55, 56 e 57

Sob os arbustos, a evaporação diurna foi maior, no alto da elevação. Entre as outras zonações, só nos meses quentes, houve diferenças nítidas, quando os menores valores foram observados no vale. No período noturno, o alto da elevação apresentou totais um pouco maiores do que os das outras zonações.

(+) A escala desses gráficos foi reduzida à metade.

VII

EVAPORAÇÃO (TOTAIS MENSAIS)

1950

Pôsto \ Mês	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
1	-	-	66,9	53,2	54,9	39,7	57,9	54,4	83,0	79,0	96,3	126,5
A_4	-	-	9,0	7,4	9,0	5,5	13,8	10,6	20,0	17,9	18,5	21,9
B_4	-	-	9,7	8,0	9,1	5,1	11,3	9,1	20,3	18,9	23,6	29,2
C_4	-	-	22,0	16,4	21,6	14,1	23,3	20,4	32,3	28,6	32,2	42,3
D	-	-	5,0	3,4	2,9	0,9	2,1	2,5	7,2	6,3	11,4	11,7

1951

Pôsto \ Mês	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
1	103,6	65,8	78,2	76,2	77,8	50,3	66,6	91,0	96,8	101,3	92,4	99,2
A_1	-	-	-	-	36,0	21,5	32,8	44,9	42,9	51,3	41,9	47,3
A_4	18,5	8,3	11,9	14,7	15,8	6,8	14,1	25,6	24,1	25,4	16,1	13,6
B_2	-	-	-	36,2	31,9	16,4	29,4	42,3	42,2	50,7	38,7	42,8
B_3	-	-	-	25,5	22,5	12,4	19,5	28,5	29,7	36,1	27,8	28,9
B_4	21,5	9,2	22,3	14,6	14,7	7,3	14,3	25,4	26,2	28,4	22,4	22,3
C_2	68,9	38,7	47,3	48,5	50,5	31,1	49,6	63,4	66,4	75,2	61,6	66,3
C_3	52,2	32,1	43,1	44,5	47,2	31,6	52,3	59,0	57,8	66,6	58,3	53,9
C_4	36,0	19,3	25,8	28,4	29,5	19,2	31,9	39,6	40,1	42,3	34,8	33,6
D	9,5	4,2	5,2	5,7	-	-	-	-	-	-	-	-

TABELA VII

VIII

EVAPORAÇÃO DIURNA (TOTAIS MENSAIS) 1950

Pôsto \ Mês	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
I	-	-	62,0	46,2	49,9	35,6	51,5	50,1	73,3	71,0	84,4	111,3
A_4	-	-	8,0	5,3	7,0	4,0	8,7	7,4	14,5	12,5	13,2	16,6
B_4	-	-	7,7	4,8	6,7	3,5	8,0	7,6	16,7	15,3	18,2	23,4
C_4	-	-	17,9	10,6	15,9	10,6	16,9	16,7	24,9	23,3	25,9	34,0
D	-	-	3,5	1,8	1,3	0,3	1,1	1,0	4,8	4,3	7,9	8,0

EVAPORAÇÃO NOTURNA (TOTAIS MENSAIS) - 1950

Pôsto \ Mês	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
I	-	-	4,9	7,0	5,0	4,1	6,4	4,3	9,7	8,0	11,9	15,2
A_4	-	-	1,9	2,1	2,0	1,5	5,1	3,2	5,5	5,4	5,3	5,3
B_4	-	-	2,0	3,2	2,4	1,6	3,3	1,5	3,6	3,6	5,4	5,8
C_4	-	-	4,1	5,8	5,7	3,5	6,4	3,7	7,4	5,3	6,3	8,3
D	-	-	1,5	1,6	1,6	0,6	1,0	1,5	2,4	2,0	3,5	3,7

TABELA VIII

IX

EVAPORAÇÃO DIURNA (TOTAIS MENSAIS) 1951

Pôsto \ Mês	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
I	91,3	58,2	70,1	68,5	73,4	46,3	63,4	79,1	86,8	82,8	80,4	84,9
A_1	-	-	-	-	32,2	18,9	29,4	38,2	37,3	43,1	34,2	38,9
A_4	13,1	6,4	8,5	10,7	13,2	5,3	11,1	19,3	20,5	20,7	13,4	11,4
B_2	-	-	-	29,1	28,6	13,7	25,2	33,7	36,5	40,4	32,7	36,7
B_3	-	-	-	21,1	19,6	9,9	16,9	22,7	24,0	29,3	23,2	24,3
B_4	18,2	6,7	16,1	12,9	12,3	5,5	11,4	19,6	21,1	23,9	18,6	17,8
C_2	53,7	32,1	37,9	38,3	44,6	24,8	41,3	50,3	55,0	56,4	52,0	53,7
C_3	43,5	26,9	33,8	35,8	40,8	24,3	43,3	46,0	48,0	51,9	45,9	44,4
C_4	27,9	15,7	20,1	22,8	24,8	15,1	25,9	31,1	33,7	32,5	28,0	26,9
D	6,8	2,1	3,2	4,3	-	-	-	-	-	-	-	-

EVAPORAÇÃO NOTURNA (TOTAIS MENSAIS) - 1951

Pôsto \ Mês	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.
I	12,3	7,6	8,1	7,7	4,4	4,0	3,2	11,9	10,0	18,5	12,0	14,3
A_1	-	-	-	-	3,8	2,6	3,4	6,7	5,6	8,2	7,7	8,4
A_4	5,4	1,9	3,4	4,0	2,6	1,5	3,0	6,3	3,6	4,7	2,7	2,2
B_2	-	-	-	7,1	3,3	2,7	4,2	8,6	5,7	10,3	6,0	6,1
B_3	-	-	-	4,4	2,9	2,5	2,6	5,8	5,7	6,2	4,6	4,6
B_4	3,3	2,5	6,2	1,7	2,4	1,8	2,9	5,8	5,1	4,5	3,8	4,5
C_2	15,2	6,6	9,4	10,2	5,9	6,3	8,3	13,1	11,4	18,8	9,6	12,6
C_3	8,7	5,2	9,3	8,7	6,4	7,3	9,0	13,0	9,8	14,7	12,4	9,5
C_4	8,1	3,6	5,7	5,6	4,7	4,1	6,0	8,5	6,4	9,8	6,8	6,7
D	2,7	2,1	2,0	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-

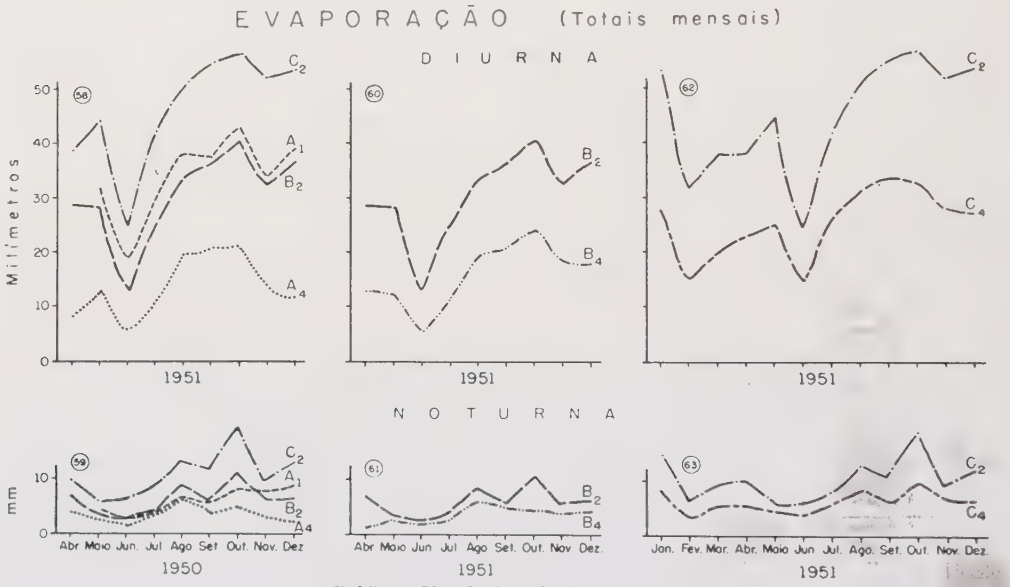
TABELA IX

Gráficos 58 e 59

Entre as árvores e as arvoretas a evaporação, tanto diurna quanto noturna, foi maior no alto da elevação. Ao contrário do que foi observado em relação à temperatura do ar e à umidade relativa, a diferença entre os dados da encosta e do alto da elevação foi maior, nessa camada de ar, do que sob os arbustos.

Gráficos 60, 61, 62 e 63

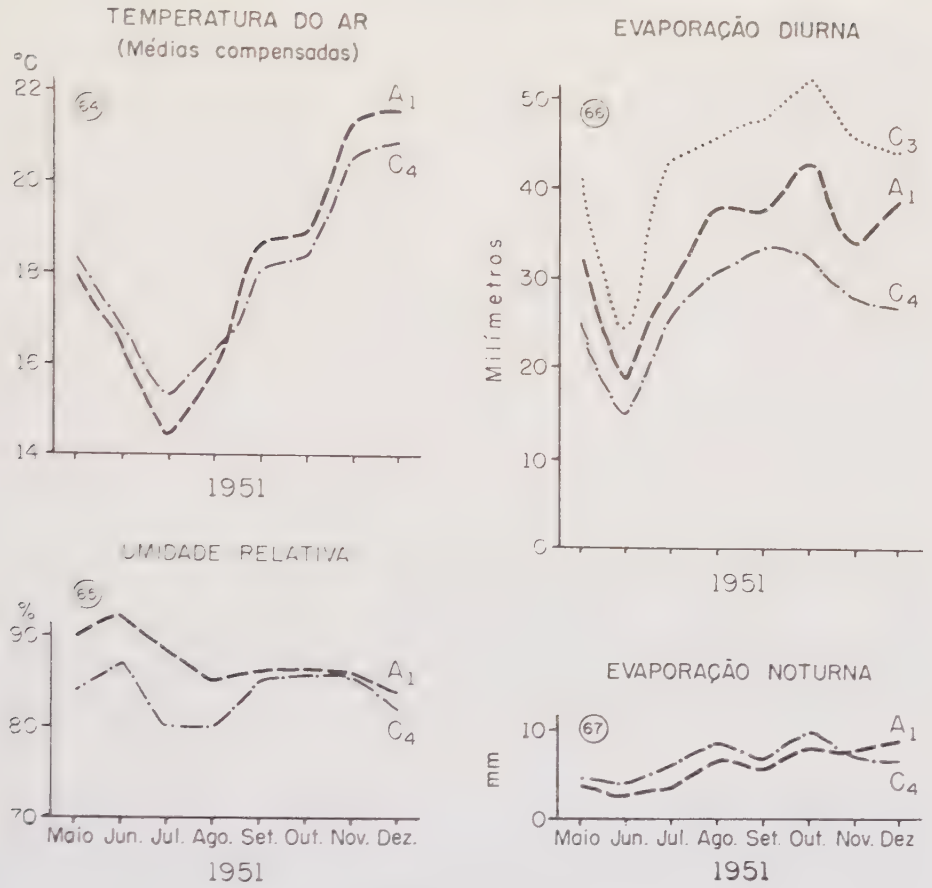
Como aconteceu no vale, também na encosta e no alto da elevação, os totais registrados, tanto de dia como de noite, foram maiores nos estratos superiores do que nos inferiores.



Gráficos 58, 59, 60, 61, 62 e 63

CONCLUSÕES

Do exame dos gráficos da temperatura do ar podemos concluir que, dois fatôres regulam a sua distribuição: a cobertura vegetal, que atua sempre no sentido de fazer baixar os valores, e a situação topográfica que tem no verão ação inversa da do inverno. Nessa época, devido às inversões de temperatura muito acentuadas, quando das freqüentes penetrações da "Massa Polar Atlântica", e à maior influência da temperatura noturna sôbre os valores médios, verificam-se as maiores diferenças entre os dados das três zonações. Para dar uma idéia da influência relativa dêsses dois fatores, topografia e vegetação, foram reunidos no gráfico 64, as temperaturas médias do pôsto situado acima das árvores do



Gráficos 64, 65, 66 e 67

vale (A_1), e as do pôsto localizado sob os arbustos do alto da elevação (C_4). Apesar de estar protegido pelos três estratos da vegetação, êste pôsto C_4, foi mais quente no inverno. A menor amplitude de variação anual de temperatura, que se nota na curva do pôsto C_4, resulta da situação topográfica, e não da cobertura vegetal. Nos gráficos em que foram comparadas médias colhidas na mesma zonação, porém entre andares diversos da mata, vê-se que a diferença entre o mês mais quente e o mais frio é, mais ou menos, a mesma. Naqueles em que figuram as temperaturas tomadas nas várias zonações, porém, entre os mesmos estratos da comunidade, vê-se que, sempre, a maior amplitude térmica anual foi observada no vale e a menor no alto da elevação. O exame dos dados apresentados mostra também que, mesmo em valores médios, as diferenças microclimáticas são muito afetadas pela evolução do estado do tempo, durante o correr do ano. Êste fator, decorrente da circula-

ção atmosférica, parece ser mais importante do que a exposição do terreno, em relação à radiação solar, porquanto a disposição das curvas não é semelhante nos meses em que a trajetória do sol é a mesma.

A distribuição dos valores médios da umidade relativa é, também, influenciada pela topográfia e pela vegetação. Pràticamente, em todo o período de observação, o vale foi o ponto mais úmido seguido da encosta e do alto da elevação. Entre os dados colhidos na mesma zonação, foram sempre mais altos, os tomados sob os arbustos. Para dar uma idéia da importância relativa dêsses dois fatôres, topografia e vegetação, estão reunidos, no gráfico 65, os dados dos postos A_1 e C_4. Apesar do pôsto do alto da elevação ficar situado abaixo dos três estratos da mata, as suas médias foram quase sempre mais baixas do que as tomadas acima das copas das árvores do vale. Os dados dos postos, onde houve observação durante dois anos, mostram que a influência do estado do tempo não é desprezível.

A distribuição dos valores da evaporação foi bastante parecida com a dos elementos vistos anteriormente. Ela foi tanto mais acentuada, quanto mais exposto era o local. No gráfico 66, referente à evaporação diurna, vê-se que, o pôsto do vale, situado acima das copas das àrvores, acusou valores intermediários aos observados abaixo dos arbustos e entre as arvoretas e os arbustos, no alto da elevação. E, no gráfico 67, vê-se que o pôsto A_1 teve evaporação noturna mais baixa que a do pôsto C_4.

AGRADECIMENTOS

Somos gratos ao saudoso meteorologista Dr. Durval Calheiros Gomes e aos Drs. Oliveira Castro e Henrique Veloso pela colaboração no planejamento do trabalho, e ao guarda do D.N.E.Ru., Sr. Evilásio de Souza, pela dedicação com que executou as suas tarefas.

RESUMO

É apresentada uma rápida introdução em que o presente estudo é situado dentro do programa de trabalho do Instituto de Malariologia, no litoral sul do Brasil. Em seguida, com o auxílio de uma série de gráficos, é mostrada a distribuição dos valores da temperatura do ar, da umidade relativa e da evaporação, nas três zonações e entre os estratos da mata. Com o intuito de permitir a outros pesquisadores a correlação entre os dados colhidos e observações referentes ao comportamento dos mosquitos, são apresentados, além das médias e totais mensais, os valores obtidos de dia e de noite.

Dêsse conjunto de dados é possível tirar, entre outras, as seguintes conclusões:

1. Temperatura do ar:

De uma maneira geral, na mata, as médias são mais baixas do que ao ar livre. Entretanto, no inverno, principalmente em meses de céu muito limpo, pode dar-se o contrário.

Os valores obtidos nas diversas zonações, à mesma altura, foram, no verão, quase iguais, com ligeira tendência para a estratificação normal. Já no inverno as médias foram bastante influenciadas pela inversão noturna e se apresentaram com diferenças maiores. Numa mesma zonação as médias foram sempre mais elevadas nos estratos superiores do que nos inferiores.

2. Umidade relativa:

As médias obtidas nos postos da mata, dependendo da sua localização, foram mais altas ou mais baixas do que as tomadas ao ar livre. Entre os mesmos estratos da vegetação os valores foram sempre maiores no vale, menores no alto da elevação e intermediários na encosta. Em cada zonação as médias foram sempre mais baixas junto à copa das árvores, do que sob os arbustos. A inversão de temperatura, que se verifica à noite, afeta pouco a distribuição das médias da umidade relativa.

3. Evaporação:

A evaporação é, durante o dia, mais elevada ao ar livre do que sob os arbustos da mata, o que nem sempre se verifica à noite. Dentre as zonações, o alto da elevação apresentou, sempre, totais maiores. No inverno os valores diurnos da encosta e do vale foram próximos, enquanto, no verão, êste apresentou totais mais baixos. À noite as diferenças foram insignificantes. Tanto de dia como de noite a evaporação foi sempre mais elevada nos estratos superiores do que, nos inferiores, de uma mesma zonação.

Na distribuição de qualquer um dêsses elementos parece ter importância primordial, a situação topográfica. Comparando os resultados das observações feitas sob os arbustos, no alto da elevação, com os obtidos acima das copas das árvores, no vale, é interessante destacar as médias correspondentes a êsse último pôsto, como se segue:

a. Temperatura mais baixa no inverno; b. Umidade elevada ou quando muito igual; c. Evaporação noturna quase sempre mais baixa; d. Evaporação diurna um pouco maior, porém menor do que a do pôsto situado entre as arvoretas e os arbustos.

SUMMARY

SOME MICROCLIMATIC MEASUREMENTS IN A FOREST OF THE "BROMELIAD-MALARIA" REGION OF SANTA CATARINA, BRAZIL.*

I. Air temperature, relative humidity and Evaporation

Mario B. Aragão **

The author presents a rapid introduction in which the present study is situated in the program of work of the Instituto de Malariologia, in the southern litoral of Brazil. Then, with the help of a series of graphs, he shows, the distribution of air temperature, relative humidity and evaporation, in thre zonations and between the various synusiae of the forest.

Besides the monthly averages and totals, the data for daily and nightly observations are presented. This will make it possible for other workers to study possible correlations between these data and mosquito behaviour.

Based on the graphs presented the author reaches, among others the following conclusions:

1. Air temperature:

Generally, in the forest, the mean temperature is lower than in the open. However, in the winter, chiefly in the months of clear sky, when the outgoing radiation is very intense, the reciprocal may also be observed.

The values obtained in the various zones at the same height, were, in the summer, almost the same, with slight tendency to normal stratification. On the other hand, in winter the averages were affected by nocturnal inversion of temperature and showed greater differences.

In a same zone the averages were always greater in the upper layers than in the lower ones.

2. Relative humidity:

The averages obtained in the forest, in dependency of the place, were higher or lower than in the open air.

Between the same layers of vegetation the values were always higher in the valley, lower on the top of the hill and intermediate in the middle of the slope of the mountain.

In each zone the averages were always lower near the crown of the trees than under the shrubs.

* — Partly supported by a grant from the Conselho Nacional de Pesquisas.
** — From the Instituto Nacional de Endemias Rurais.

The nocturnal inversion of temperature has little effect over the distribution of the mean values of relative humidity.

3. Evaporation:

During the day, evaporation is higher in the open air than under the shrubs of the forest, a condition which is not always prevalent at night.

Among the zones, the top of the elevation presented always higher totals. In the winter, the daily values of the midle of the slope and of the ground of the valley were similar while in summer the latter presented lower totals. At night differences were insignificant.

Either during the day or at night evaporation was always higher in the upper synusiae than in the lower one of the same zone.

Topography seems to be the most important factor, in relation to any of these elements. Comparing the results of observations carried out under the shrubs on top of the hill with the ones obtained above the crown of the tress in the valley, the averages corresponding to the latter should be pointed out, as follows: a) Lower temperature in winter; b) Higher, or at least similar, relative humidity; c) Nocturnal evaporation almost always lower; d) Daily evaporation a little higher, but lower than that of the station located imediatly above the shrubs, on the top of the hill.

ZUSAMMENFASSUNG

EINIGE MIKROKLIMATISCHE WERTE DES WALDES DER REGION "BROMELIEN-MALARIA" AUS SANTA CATARINA, BRASILIEN.*

I. Luftemperatur, relative Feunchtigheit und Verdunstung

Mario B. Aragão **

Nach einer kurzen Einleitung, in der aufgezeigt wird, wie sich die vorliegende Studie in das Arbeitsprogramm des Malaria-Institutes in der Kuestenzone Suedbrasiliens einpasst, wird an Hand einer Serie von graphischen Darstellungen die Verteilung der Lufttemperatur, der relativen Feuchtigkeit und der Verdunstung in den drei Zonen und den Hoehenschichten des Waldes wiedergegeben.

Um anderen Untersuchern den Zusammenhang zwischen den erhaltenen Werten und den Beobachtungen bezueglich des Verhaltens der Mosquitos zu erleichtern, werden, ausser den monatlichen Mittel — und Totalwerten, auch die gewonnenen Werte fuer Tag und Nacht angegeben.

* — Durchgefuehrt mit Unterstuetzung des Conselho Nacional de Pesquisas.
** — Aus dem Instituto Nacional de Endemias Rurais.

Aus den Befunden kann unter anderem folgendes geschlossen werden:

1. Lufttemperatur:

Im allgemeinen sind im Wald die Mittelwerte niedriger als in der freien Luft. Im Winter, hauptsaechlich waehrend der Monate mit unbedecktem Himmel, kann jedoch das Gegenteil eintreten.

Die Werte in den verschiedenen Zonen gleicher Hoehenlage waren im Sommer fast gleich mit nur geringer Neigung zu normaler Schichtung. Schon im Winter Wurden die Werte staerker durch die naechtliche Inversion beeinflusst, so dass sie groessere Unterschiede aufweisen. In ein und derselben Zone lagen die Mittel in den hoheren Schichten immer hoeher als in den tieferen.

2. Relative Feuchtigkeit:

Die Mittelwerte der Beobachtungsposten im Wald, in Abhaengigkeit von ihrer Lage, waren entweder hoeher oder tiefer als die derjenigen in freier Luft.

In denselben Schichten der Vegetation waren die Werte im Tal immer am hoechsten und auf den Gipfeln der Bodenerhebungen am tiefsten; an den Abhaengen zeigten sie Uebergangswerte.

In jeder Zone waren die Mittel in der Schicht unmittelbar unter den Baumkronen immer niedriger als unter dem Unterholz.

Die naechtliche Temperaturinversion beeinflusst nur wenig die Verteilung der Mittelwerte der relativen Feuchtigkeit.

3. Verdunstung:

Die Verdunstung waehrend des Tages ist hoeher an der freien Luft als unter dem Buschholz des Waldes, was waehrend der Nacht nicht immer eintritt.

Unter den Zonen zeigte immer die auf den Erhebungen die hoeheren Totalwerte. Im Winter glichen sich die Tageswerte der Abhaenge und die des Tales aus, waehrend im Sommer letzteres niedrigere Totalwerte zeigte. Zur Nacht waren die Unterschiede unbedeutend.

Die topographische Lage scheint grundsaetzliche Bedeutung in Bezug auf die Verteilung aller angefuehrten Werte zu haben.

Wenn wir die Beobachtungsresultate der Schicht unterhalb des Unterholzes auf den Erhebungen mit denen obderhalb der Baumkronen der Talzone vergleichen, ist es interessant, die entsprechenden Mittelwerte des letzteren Beobachtungspostens wie folgt hervorzuheben:

a) Temperatur tiefer im Winter;
b) Feuchte hoeher oder fast gleich;
c) Verdunstung nachts fast immer tiefer;
d) Verdunstung tags etwas hoeher, jedoch kleiner als die des Postens, der auf den Hoehen zwischen dem Unterholz und den kleinen Baeumen gelegen ist.

BIBLIOGRAFIA

1 — Pessôa, S. B., 1949 — Problemas brasileiros de higiene rural. 1 vol. 582 págs. 91 clichés. São Paulo.

2 — Veloso, H. P., Fontana Junior, P., Klein, R. M. e R. J. Siqueira Jacoud, 1956 — Os anofelinos do sub-gênero *Kerteszia* em relação à distribuição das bromeliáceas em comunidades florestais do município de Brusque, Estado de Santa Catarina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, *54* (1): 1-86.

3 — Veloso, H. P. e R. M. Klein, 1957 — As comunidades e associações vegetais da mata pluvial do sul do Brasil. — II. Dinamismo e fidelidade das espécies em associações do município de Brusque, Estado de Santa Catarina. Em publicação.

4 — Códigos Meteorológicos Internacionais. Forma Synop. Ed. do Serviço de Meteorologia. Sem data.

5 — Ferrão, R. C. P. ,1941 — *in* Normais Climatológicas. Serviço de Informação Agrícola. Rio de Janeiro.

6 — Observatório Nacional, 1950 — Anuário para o ano de 1951. Ano LXVII. Rio de Janeiro.

Metodos usados em microanatomia e histologia entomológica. (*)

Rudolf Barth

Índice:

I. Introdução

II. Preparações totais

a) Montagem de esqueletos de insetos inteiros
b) Montagem de insetos sem pigmentação
c) Montagem de insetos pigmentados
d) Preparo do soluto aquoso de dióxido de cloro
e) Montagem de insetos com coloração
f) Montagem de asas
g) Montagem de asas com coloração dos núcleos

III. Fixação

a) Formol
b) Sublimado
c) Ácido ósmico
d) Branqueamento
e) Fixadores para orientação geral
f) Fixação de musculatura estriada
g) Fixação do protoplasma
h) Fixação de material para estudos de espermiogênese
i) Tampão para ácido ósmico
k) Fixação de derivados do protoplasma
l) Fixação de folículos, tubos e canais

IV. Desidratação

a) Desidratação de objetos maiores e partes com cutícula
b) Desidratação de objetos menores sem cutícula
c) Desidratação de cortes

* Trabalho realizado sob os auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas. Recebido para publicação em 23-7-1958.

V. Inclusão em parafina

a) Parafina
b) Parafina com latex
c) Inclusão de pequenos objetos

VI. Cortagem

a) Descarregar o micrótomo
b) Tipos de micrótomos

VII. Coloração

a) Idratação e desidratação de cortes sôbre lâminas
b) Adesivo de albumina-glicerina
c) Conservação de corantes sensíveis
d) Exame de corantes
e) Coloração para orientação geral I.
f) Coloração para orientação geral II.
g) Coloração para orientação geral III.
h) Coloração das estruturas celulares
i) Coloração dos gânglios
k) Coloração dos limites celulares

VIII. Outras técnicas

a) Solutos isotônicos para insetos
b) Injeção nas traquéias
c) Expulsão das secreções
d) Determinação da relação entre o peso do animal vivo e o da massa cuticular
e) Demonstração dos órgãos de fagocitose
f) Preparação de pequenos objetos

I. INTRODUÇÃO.

Examinando a bibliografia entomológica, constatamos que os trabalhos referentes a sistemática ocupam o primeiro lugar, enquanto que o número dos estudos morfológicos, *sensu latiori,* e histológicos é consideràvelmente pequeno. Êste fato explica-se pela necessidade, de antes de analizar a composição e o funcionamento do corpo, descrever, classificar e registrar a imensa quantidade de insetos no mundo inteiro. Com isso, lògicamente, os métodos usados em sistemática são bem conhecidos e uniformizados. O aspecto é bem diferente na parte de micronatomia e histologia; pois, nestas matérias, os resultados dependem, em grande escala, da perfeição das técnicas e da aplicação exata das prescrições de trabalho. Os métodos e indicações, encontrados em numerosos trabalhos, publicados na Europa, América do Norte, e outras regiões de clima moderado, podemos empregar sòmente com bastante restrições e modificações; por exemplo os de desidratação e de infiltração com parafina, pois as especiais condições climáticas, como umidades relativa e absoluta, temperatura e eletricidade estática do ar e dos aparelhos, exigem precauções diferentes e alterações das indicações encontradas nos manuais sôbre técnicas de laboratório.

No início dos meus estudos micronatômicos e histológicos no Brasil, surgiu logo a necessidade de analisar todos os métodos, que usei na Europa e sempre me deram bons resultados, afim de localisar as dificuldades e de encontrar as razões

e fatôres, que me impossibilitam o emprêgo das fórmulas clássicas, em nosso laboratório. Por exemplo, não conseguimos cortar séries ininterruptas de cortes com menos de 7 μ, até descobrir que em certos dias, sob condições climáticas especiais (depois da passagem de frentes de ar frio, mesmo de frentes ocultas) a eletricidade estática do ar aumenta tanto, que os cortes de parafina se colam ou enrolam na navalha ou no bloco. Ligando o micrótomo a terra (tubulação de água ou gas), consegui descarregar o metal para evitar êste fator.

Em virtude da falta de descrições de métodos em microanatomia e histologia usados na entomologia e descritos na língua portuguêsa, o prof. Olímpio da Fonseca, então diretor do Instituto Oswaldo Cruz, sugeriu-me compôr, em forma de guia, os métodos mais conhecidos e usados. Assim de forma provisória, saiu a comunicação "Métodos de trabalho na anatomia e histologia entomológica", publicada nas Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (1953, Vol. 51: 95-186). Durante os seguintes anos modifiquei e aperfeicionei vários métodos. Estas modificações técnicas foram publicadas, parcialmente, em numerosas comunicações apresentadas em várias revista (Mem. Inst. Oswaldo Cruz; Zool. Jahrb. (Anat.); Rev. Brasil. Biol.; Rev. Ent.; An. Acad. Brasil. Ciênc.). Diversos colegas e interessados propuseram-me desde há alguns anos, uma nova publicação sôbre os métodos que usamos atualmente, de preferência os aplicados na histologia entomológica. Verifiquei, realmente, que sôbre esta parte da microtécnica, no momento não existe nenhuma apresentação especializada, e que os manuais de microscopia se referem, em geral e com poucas excessões, ao material de vertebrados e de alguns invertebrados com excessão dos insetos. Resolvi, então, tentar resumir as novas experiências e indicar as modificações de técnicas, que estamos usando atualmente, sabendo, aliás, que também esta comunicação será incompleta pois, correspondendo às necessidades, oriundo dos problemas em questão, sempre estamos sujeitos de alterar as prescrições. Nêste sentido, esta publicação não representa uma simples coleção de métodos já conhecidos, mas sim um resumo das experiências dos últimos anos de trabalho no laboratório que tem como finalidade ajudar colegas e principiantes, que queiram dedicar-se à matéria em apreço.

Somos de opinião, que cada cientista, que tenha em vista o progresso da ciência, deve comunicar, de vez em quando, os aperfeiçoamentos das suas técnicas e os resultados das experiências obtidas com aparelhos, assim como novos métodos aplicados sob as nossas condições meteorológicas e climatológicas. Estas publicações contribuem, em grande escala, para a formação de novos cientistas.

II. PREPARAÇÕES TOTAIS.

a) MONTAGEM DE ESQUELETOS DE INSETOS INTEIROS OU DE PARTES DO CORPO. Em vez do conhecido método para montagem das partes cuticulares, segundo a descrição de Costa Lima (veja: Insetos do Brasil, Vol. 3, págs. 200-201), usamos em geral, uma técnica mais suave na destruição dos pigmentos e tecidos, e na clarificação e desidratacão, a fim de manter em posição natural os órgãos internos, facilitando, assim, a análise da anatomia interna:

b) MONTAGEM DE INSETOS OU PARTES DO CORPO SEM PIGMENTAÇÃO, considerando-se êste método como técnica padrão:

— 1: Fixação por álcool, formol e outro fixador convencional, evitando, aliás, misturas que contêm cloreto ou bicloreto de mercúrio. Aconselha-se fixadores com ácido pícrico que, por sua vez, tinge ligeiramente os órgãos internos.

— 2: Lavagem e desidratação através da série crescente de álcoois até o de 96%.

— 3: Enxugar ligeiramente com papel de filtro e colocar em terpinol puro.

— 4: Deixar em terpinol até que o objeto esteja suficientemente diafanisado (até alguns dias, conforme o tamanho do inseto e a grossura da sua cutícula).
— 5: Terpinol puro (alguns minutos).
— 6: Montar em balsamo de Canadá.

O terpinol oferece duas vantagens em comparação com benzol (benzene), xilol, creosoto, óleo de cedro e outros óleos vegetais: Êste é capaz de armazenar relativa quantidade de água e álcool, sem turvação, e de não endurecer as articulações do objeto, como é o caso de alguns outros intermediários, facilitando, assim, a montagem final na lâmina.

c) MONTAGEM DE OBJETOS PIGMENTADOS.

— 1: Fixação como em II b).
— 1: Transpor em álcool a 60%.
— 3: Colocar em diafanol (e manter no escuro) até a destruição completa dos pigmentos; o processo prossegue, lentamente, e pode demorar por vários dias. Caso que o líquido descorre, deve ser substituído por nova quantidade.
— 4: Lavagem em álcool a 60%.
— 5: Desidratar até álcool a 90%.
— 6: Terpinol (2 vêzes) até diafanizar o objeto.
— 7: Montar em bálsamo de Canadá.

Diafanol é uma mistura de 10 partes de um soluto aquoso de dióxido de cloro e de 1 parte de ácido nítrico oficinal (25%; pêso específico: 1.145-1,148). O dióxido de cloro (é preciso ter cuidado — pois o gas é venenoso) deve ser guardado no escuro sendo melhor ainda na geladeira a fim de evitar que o gás saia da água.

d) PREPARO DE SOLUTO AQUOSO DE DIÓXIDO DE CLORO (SEGUNDO MOLLER):

— 1: Em um desecador de 1 000 cm^3 de contúdo, com tampa esmerilhada, deposita-se 220 cm^3 de água destilada.
— 2: Em um vidro aberto (tipo Becker), de 100 cm^3 de conteúdo, joga-se 12 cm^3 de água distilada juntando-se, devagar e sempre mexendo, 44 cm^3 de ácido sulfúrico concentrado, e, depois de esfriar, coloca-se êste vidro no desecador.
— 3: Juntam-se ao ácido diluido 12 g de clorato de potássio ($KC1O_3$) (cuidado explosível).
— 4: Fecha-se o desecador (evite inspirar o gas do dióxido de cloro) deixando tudo 24 horas no escuro. O gas citado dissolve-se na água do desecador; o soluto, depois da saturação, tem uma côr fortemente amarelada.
— 5: Êste líquido pode ser conservado, por muito tempo, na geladeira.

e) MONTAGEM DE INSETOS COM COLORAÇÃO:

— 1: Fixação como em II b).
— 2: Transpor em álcool a 60%.
— 3: Colocar em diafanol (mantendo no escuro) como em II c).
— 4: Lavagem em álcool a 60%.

— 5: Neutralizar em uma mistura de parte iguais de tiosulfato de sódio (2,5%, aquoso) e nitrato de sódio (5%, aquoso), substituindo êste líquido por outra quantidade até ficar sem turvação, mínimo 6 horas.

— 6: Água corrente, 30 minutos.

— 7: Corar os núcleos em galocianina ou azul de galamina, algumas horas até 2 dias conforme o tamanho do objeto. Não há perigo de supercoloração.

— 8: Água destilada.

— 9: Desidratar pela série de álcoois até 96%.

—10: Coloração contraste em vermelho congo — orange. Duração: na estufa de 60° 2 a 4 horas; na temperatura do ambiente 1 até 2 dias.

—11: Lavar em álcool 96%.

—12: Terpinol (duas vêzes) até diafanizar.

—13: Montar em bálsamo de Canadá.

Resultado: Núcleos azuis; protoplasma ligeiramente azulado, músculos amarelos; cutícula (inclusive tendões) vermelho. Em pequenos insetos êste método permite analizar tôda a anatomia interna, enquanto que em insetos maiores a cutícula grossa dificulta as observações da estrutura dos órgãos internos.

Solutos: a) Galocianina: ferver (3') 0,15 g de galocianina em 100 cm^3 de um soluto a 5% de alumem de crômo; deixar esfriar; filtrar e completar o filtrado com água destilada até 100 cm^3.

b) Azul de galamina: ferver 0,1g do corante em 100 cm^3 de um soluto a 5% de alúme de sódio ou potássio; deixar esfriar; filtrar e completar até 100 cm^3 com água destilada.

c) Vermelho congo-orange; mistura-se partes iguais de soluto saturados de vermelho congo e orange "GG" em álcool a 96%.

f) MONTAGEM DE ASAS:

— 1: Colocar a asa no diafanol. A asa irá flutuar sôbre o líquido; para aumentar a velocidade de difusão do diafanol, a asa deverá ser molhada por uma gota de éter. Duração: até a asa ficar amarelo claro.

— 2: Colocar em álcool a 96%. No caso de ficarem bolhas de ar nas nervuras, aquece-se o recipiente com o objeto no banho maria, até as bolhas sairem.

— 3: Transpor para vermelho congo. Duração: na estufa a 60° até 30'; na temperatura ambiente 2 horas ou mais.

— 4: Lavar em álcool a 96%, 2'.

— 5: Colocar em terpinol. Controlar até que a asa fique bem transparente.

— 6: Pegar a asa, entrando com o porta-objetos no próprio líquido, e montar em bálsamo de Canadá.

Soluto de vermelho congo: dissolve-se 1 g do corante em 100 cm^3 de álcool a 96%, agitando repetidamente. Filtrar depois de 24 horas. O soluto é estável e pode ser usado por muito tempo.

g) MONTAGEM DE ASAS COM COLORAÇÃO DOS NÚCLEOS

Afim de localisar glândulas, sensilas, nervos e hemácias no interior da asa, precisa-se de uma coloração dos núcleos. O seguinte método pode ser aplicado sòmente em material fresco.

— 1: Fixação em líquido de Carnoy (6 partes de álcool absoluto, 3 partes de clorofórmio e 1 parte de ácido acético glacial) (10').
— 2: Álcool a 96%, 10'.
— 3: Álcool a 60%, 10'.
— 4: Diafanol (até a destruição dos pigmentos).
— 5: Álcool a 60%, 5'.
— 6: Álcool a 40%, 5'.
— 7: Neutralizar (veja sob item II e -5)
— 8: Água destilada.
— 9: Coloração por galocianina (veja sob item II e), algumas horas. Para acelerar a coloração pode-se aquecer, mas não ferver.
—10: Água destilada, 1'.
—11: Álcool a 70%, 5'.
—12: Vermelho congo (veja sob item II f).
—13: Álcool a 96%, 5'.
—14: Terpinol e montagem em bálsamo de Canadá conforme o item IIf -5 e -6.

III. FIXAÇÃO.

a) FORMOL. Sempre contém certa quantidade de ácido fórmico, por isto deve ser conservado em vidro escuro, pois a formação do citado ácido se efetua sob a ação da luz. A fim de neutralizar o formol concentrado (aproximadamente 40% do gas de formaldehido em água) basta colocar no fundo do vidro uma camada (1 ou 2 cm de grossura) de carbonato de cálcio pulverizado, agitando de vez em quando; o P_H corresponde aproximadamente a 6,5.
Como meio de diluição do formol usa-se água corrente, pois a alcalinidade desta neutralisa uma grande quantidade do ácido fórmico.
Nas colorações com corantes sensíveis aos ácidos (hematoxilinas) elimina-se os depósitos ácidos depois de uma fixação em formol, mergulhando a lâmina com os cortes, várias vêzes em amoníaco a 2,5% (NH_4OH); esta manipulação, de outro lado, aumenta a afinidade de certas estruturas aos corantes.

b) SUBLIMADO (BIOCLORETO DE MERCÚRIO): Depois de fixação com líquidos, que contêm sublimado, deixamos o emprêgo de iodo pois êste diminui a afinidade do citoplasma e várias estruturas (fibrilas em células glandulares, fusos e cromatina). A fim de eliminar os depósitos de sublimado deixamos os cortes 24 horas em álcool a 40% na estufa a 60° C. Em vez de sublimado experimentamos o cloreto de mercúrio (calomel) que deu resultados melhores pois o protoplasma coagula em granulações muito mais finas.

c) ÁCIDO ÓSMICO (TETRÓXIDO DE ÓSMIO): Para diminuir o perigo, o tetróxido de ósmio de se reduzir sob a influência da luz ou das impurezas, mantemo-o na geladeira, tanto o ácido tamponado como o soluto em ácido crómico.

d) BRANQUEAMENTO DEPOIS FIXAÇÃO COM ÁCIDO ÓSMICO: A forte coloração escura de certas partes depois de fixadas pelo ácido ósmico (gorduras, óleos, mitocôndrios etc.) pode ser eliminada pelos seguintes métodos:

A. Método com permanganato de potássio.

— 1: Colocar as lâminas com os cortes em xilol até extração total da parafina.
— 2: Álcool a 100%.
— 3: Álcool a 96%.

— 4: Álcool a 70%.
— 5: Álcool a 40%.
— 6: Água destilada.
— 7: Mergulhar as lâminas em um soluto de permanganato de potássio a 0,3%, juntando a mesma quantidade de ácido sulfúrico concentrado.
— 8: Água corrente, mínimo 1 hora.
— 9: Neutralizar em carbonato de lítio (ou bicarbonato de sódio) a 5%.
—10: Água destilada (duas vêzes), 10'.
— depois coloração com hematoxilina férrica (veja o item VII h).

B. Método com dióxido de cloro.

— 1: Colocar as lâminas com os cortes em xilol até a extração total da parafina.
— 2: Álcool a 100%.
— 3: Álcool a 96%.
— 4: Álcool a 70%.
— 5: Colocar as lâminas num vidro em cujo fundo se colocou antes 10 a 15 gotas de soluto de dióxido de cloro em água (conforme o item II d) até o branqueamento desejado, efetuado pelo gas do dióxido.
— 6: Água destilada, 1'.
— 7: Neutralizar em uma mistura de partes iguais de soluto aquoso de tiosulfato de sódio (2,5%) e nitrato de sódio (5%), renovando o líquido várias vêzes até ficar sem turvação (aproximadamente 2 horas).
— 8: Água destilada.
— depois coloração com hematoxilina férrica (veja o item VII h).

e) FIXADORES PARA ORIENTAÇÃO GERAL:

Num corte de insetos encontramos vários tecidos diferentes, que para exame histológico, podemos fixar e corar sòmente com métodos especiais conforme a finalidade do estudo. Para orientação geral usamos os seguintes métodos de fixação, que conservam todos os tecidos em estado suficiente para uma coloração que permite analisar os componentes que compõem o corte.

A. Fixação com o líquido segundo Buoin-Dubosq-Brasil (modificado):

Composição: Soluto-mãe: Soluto saturado de ácido pícrico em álcool a 80%.
Antes do uso mistura-se: 7,5 partes do soluto-mãe, 7,5 partes de álcool a 80%, 6 partes de formol neutro e 1 parte de ácido acético glacial.

Emprêgo: Depois da fixação (2 até 12 horas conforme o tamanho do objeto) colocar o material em álcool a 70%, renovar êste algumas vêzes até o álcool ficar claro; depois desidratar os objetos pelo método convencional (veja sob item IV a).

B. Fixação com líquido de Carnoy com sublimado (mod. seg. Weber):

Composição: 60 partes de álcool absoluto, 30 partes de clorofórmio, 10 partes de ácido acético e 0,6 g de sublimado. Em vez de sublimado pode-se usar cloreto de mercúrio (calomel), juntando êste ao álcool da mistura até a saturação

Emprêgo: Dedois da fixação (1 até 3 horas conforme o tamanho do objeto) lavar em álcool a 96% e, depois, desidratar pelo método do item IV a).

f) FIXAÇÃO DA MUSCULATURA ESTRIADA:

Fixador de Helly.

Composição: Dissolve-se em 100 cm³ água destilada 2,5 g bicromato de potássio, 1 g sulfato de sódio e 5 g de sublimado. Antes do uso, junta-se 5 cm³ de formol.

Emprêgo: Duração 12 a 24 horas; após a fixação impregnar com bicromato de potássio, 3% em água destilada, durante 5 a 7 dias. Depois lavar em água corrente, 24 horas, e desidratar segundo o item IV a).
Coloração dos cortes com hematoxilina férrica.

Além dos elementos fibrilares dos músculos, consegue-se demonstrar os mitocôndrios intersticiais e o retículo interfibrilar que se tingem em côr cinzento-amarelada.

g) FIXAÇÃO DO PROTOPLASMA, especialmente em células glandulares, células do intestino, tecido adiposo e tubo de Malpighi:

A. Fixador de Heidenhain (chamado "Susa"):

Composição: 80 cm³ água destilada, 0,5 g cloreto de sódio, 2 g ácido tricloracético, 4,5 g sublimado, 4 cm³ ácido acético glacial e 20 cm³ formol.

Emprêgo: Depois da fixação (2 à 24 horas conforme o tamanho do objeto) lavar em álcool a 96% (renovar algumas vêzes) e desidratar conforme o método comum (veja o item IV a).

B. Fixador de Gilson:

Composição: 880 cm³ água destilada; 20 g sublimado; 90 cm³ álcool a 70%; 15 cm³ ácido nítrico e 4 cm³ ácido acético glacial.

Emprêgo: Duração de 1 à 6 horas. Lavar em álcool a 70% e desidratar pelo método comum (veja o item IV a).

Êste último método é aconselhável caso que o material possui partes cuticulares cujas incrustações são parcialmente extraídas.

h) FIXAÇÃO DE MATERIAL PARA ESTUDOS DE ESPERMIOGÊNESE:

Para evitar modificações postmortais, empregamos a seguinte técnica de preparação e fixação;

— 1: Decapitar o inseto e abrir dorsalmente o corpo.
— 2: Jogar, com uma pipeta, o fixador na cavidade aberta, a fim de fixar, superficialmente, os testículos evitando, assim, modificações postmortais pela preparação.
— 3: Renovar o fixador algumas vêzes durante 10'.
— 4: Isolar os testículos e colocá-los num vidro com o fixador (trabalhar com instrumentos não metálicos).
Como fixador usamos, exclusivamente, ácido ósmico, puro, a 1% (conservar na geladeira).

Para obter os melhores resultados, especialmente, para demonstração de mitocôndrios e do aparelho de Golgi, recomendamos o emprêgo de tetróxido de ósmio tamponado de seguinte maneira:

i) TAMPÃO PARA O_sO_4 (SEGUNDO STERN):

Soluto mãe: Dissove-se 9,714 g de acetato de sódio (3 H_2O) e 14,714 g de "veronal sódico" em água bidestilada (livre de CO_2) ad 500 cm^3. Mistura-se 5 partes do soluto mãe com 2 partes de um soluto de cloreto de sódio a 8,5% em água bidestilada; é êste líquido que chamamos "soluto base". Para obter um certo P_H adiciona-se a 7 cm^3 de soluto base: a cm^3 n/10 HCl e (18-a) cm^3 H_2O bidestilada, conforme a seguinte tabela:

"a"	P_H	*"a"*	P_H
0,00	9,64	6,50	6,75
0,25	9,16	7,00	6,12
0,50	8,90	8,00	5,32
0,75	8,68	9,00	4,93
1,00	8,55	10,00	4,66
2,00	8,18	11,00	4,33
3,00	7,90	12,00	4,13
4,00	7,66	13,00	3,88
5,00	7,42	14,00	3,62
5,50	7,25	15,00	3,20
6,00	6,99	16,00	2,62

Valores intermediários pode-se calcular por meio de interpolação linear. Para a fixação usamos um P_H de 7,25.

Em cada caso evitamos o emprêgo de ácido acético pois verificamos o mesmo fato, já descrito por vários autores, que êste ácido dissolve certas estruturas celulares e provoca uma forte embibição de cromosomas, mitocôndrios, aparelho de Golgi (parcialmente dissolvido) e fibrilas, falsificando, assim, o aspecto microscópico.

Duração da fixação com ácido ósmico tamponado:

partes com o menor diâmetro até 1 mm -: 1 hora;
partes com o menor diâmetro até 1,5 mm: 2 horas;
partes com o menor diâmetro até 3 mm -: 6 horas.

Depois de ter lavado o material em água corrente (24 horas), passa-se pela série de álcoois, terpinol e parafina.

k) FIXAÇÃO DE DERIVADOS DO CITOPLASMA:

Para fixação dos fios do fuso, centríolos, mitocôndrios, aparelho de Golgi, limites celulares e tonofibrilas preferimos ácido ósmico e sublimado. Por êste método o citoplasma (*sensu strictiori*) apresenta apenas uma precipitação parcial, dando um aspecto esponjoso, de maneira que, as citadas estruturas resaltam mais do citoplasma não modificado do que depois de fixação com ácido ósmico tamponado. Usamos a seguinte composição:

4 partes de ácido ósmico a 1% dissolvido em ácido crómico a 1% e
2 partes de um soluto aquoso de cloreto de mercúrio (sublimado), saturado).

O modo da fixação é o mesmo como o com ácido ósmico puro.

l) FIXAÇÃO DE FOLÍCULOS, TUBOS, CANAIS ETC.:

Afim de fixar objetos em forma de tubos bem esticados, usamos folhas de celofane:

— 1: Prepare uma fôlha de celofane, jogando algumas gotas de um soluto (aproximadamente semisaturado) de celofane em acetona, sôbre vidro limpo. Depois de ter evaporado o líquido solvente, corte pedaços do filme em tamanho de uma lâmina.

— 2: Prepare o material em soluto isotônico (veja o item VIII a), fixe uma extremidade do tubo por um fio de "nylon" e coloque o mesmo sôbre a fôlha de celofane que, por sua vez, é colocada sôbre uma lâmina de vidro por meio de adhesivo de albumina (veja o item VII b).

— 3: Fixação em gás de ácido ósmico:
Deposite algumas gotas do ácido (1% ou 2% em água) no fundo do tubo de coloração e coloque a fôlha de celofane com o material em posição vertical, no mesmo recipiente, fechando-o depois. O gás de ácido ósmico, acumulado no tubo, dissolve-se no líquido do material fixando o tecido depois de 20 a 30 minutos. A folha de celofane torna-se-á preta como o objeto.

— 4: Trata-se o material agora como depois de fixação comum com ácido ósmico, subindo a série de álcoois até 96%, passando-se depois para álcool-benzol (partes iguais de álcool a 96% e benzol puro). A fôlha de celofane dissolver-se-á e o material, bem esticado, está pendurado no fio de "nylon". Depois de tratar o objeto 2 horas com terpinol puro, coloca-se o material, sempre em posição vertical, em parafina líquida, para ser depois de 2 ou 3 horas emblocado em parafina.

IV. Desidratação:

a) DESIDRATAÇÃO DE OBJETOS MAIORES E PARTES COM CUTÍCULA:

A umidade relativa e absoluta do ar muito elevada, especialmente no Rio de Janeiro, dificultam o emprêgo de álcool "absoluto", pois um álcool, altamente sêco, quando em contacto com o ar, logo reabsorve tanta água que a sua concentração cai até 98% ou menos. Depois de ter experimentado e comparado numerosos métodos, escolhemos como melhor processo de desidratação (especialmente de partes que contêm estruturas cuticulares) uma série de misturas entre álcool a 96% e benzol (benzene) puro, método êste já aplicado por Kisser em material de vegetais. Apresentamos, em seguida, como exemplo, a desidratação de um abdômem de um Lepidóptero com o comprimento de 13 mm e de um diâmetro de 6 mm:

— 1: Fixação segundo Bouin-Duboscq-Brasil —: 6 horas ou mais (Nêste líquido os objetos podem ser conservados durante algumas semanas. Para estudos histológicos, aliás, o material não deve ficar mais do que 12 horas.).

— 2: Lavar várias vêzes em álcool a 70% para eliminar o excesso de ácido pícrico e ácido acético. Duração total: 6 horas.

— 3: Álcool a 96%, 6 horas.

— 4: Álcool a 96% e benzol na proporção 3: 1, 6 horas.

— 5: Álcool a 96% e benzol na proporção 1:1, 6 horas.

— 6: Álcool a 96% e benzol na proporção 1:3, 6 horas.

— 7: Álcool a 96% e benzol na proporção 7:100, 6 horas.

— 8: Benzol puro (duas vêzes), cada vez 6 horas.

— 9: Parafina.

B) DESIDRATAÇÃO DE OBJETOS MENORES SEM CUTÍCULA:

Partes do corpo, menores do que 5 mm de diâmetro e sem cutícula, não precisam deste tratamento demorado. Examinamos vários líquidos intermediários, que podem ser intercalados entre álcool "absoluto" e benzol (ou xilol) afim de eliminar do objeto os restos de água e álcool, que mesmo sendo vestígios, não

saem mais do tecido quando o material está no líquido final. Os melhores resultados que obtivemos foram sempre com terpinol (puro, para análise), que pode ser substituído por eucaliptol que, embora endureça mais o tecido, não possui a grande capacidade de reter água e álcool como observamos com terpinol. A desidratação de um tecido, por exemplo, testículo de um heteróptero, com o diâmetro menor de 2 mm, faz-se conforme os seguintes itens:

— 1: Fixação com ácido ósmico tamponado, 3 a 4 horas.
— 2: Lavar em água corrente, 12 a 24 horas.
— 3: Álcool a 40%, 2 horas.
— 4: Álcool a 70%, 2 horas.
— 5: Álcool a 96%, 6 horas.
— 6: Terpinol e álcool a 96% na proporção 1:1, 3 a 6 horas.
— 7: Terpinol, 6 horas (o material, no início, flutua sôbre o terpinol, depois da infiltração afunda e torna-se mais ou menos transparente).
— 8: Terpinol, 2 horas.
— 9: Benzol, 3 a 6 horas.
—10: Parafina.

Caso que a desidratação é perfeita, não se precisa passar o material pelo soluto saturado de parafina em benzol.

C) DESIDRATAÇÃO DE CORTES:

Depois de algumas passagens de lâminas contendo cortes corados, pela série de álcoois e xilol. êste último líquido possui tanto álcool e restos de água, que não desidrata o suficiente, para poder montar o material em bálsamo de Canadá. Para evitar o perigo de turvação do xilol ou bálsamo, incluimos entre o álcool absoluto e xilol uma mistura de:

benzol — 2 partes.
toluol — 1 parte.
xilol — 1 parte.
terpinol — 3 partes.

Além de reter restos de álcool e de uma certa quantidade de água, êste solução oferece a vantagem de diafanizar os corte muito mais intensamente do que benzol ou xilol. Observamos o efeito clarificante de mistura especialmente em cortes finos (0,5 a 2 μ) de células glândulares, ovários e testículos onde, depois de coloração com hematoxilina férrica, o citoplasma torna-se tão transparente, que os outros componentes protoplasmáticos e núcleares se realçam com grande contraste. Assim, a análise das estruturas é muito mais fácil pois, nestes cortes finos, os contrastes são, em geral, fracos e, de outro lado, não se pode aplicar o dispositivo de contraste de fases em corte corados.

V. Inclusão em parafina.

a) Escolhemos como meio de inclusão a parafina, por ser esta substância a única, com que conseguimos cortar fileiras ininterruptas de cortes até menos que 1 μ. Experimentamos também celoidina e celoidina-parafina, mas sempre com resultados não satisfatórios. Observamos que o tratamento do material com éter, clorofórmio ou metanol durante as manipulações preparatórias para a inclusão em celoidina, danifica o aspecto histológico.

b) PARAFINA COM LATEX:

A parafina pura, muitas vêzes, não adere suficientemente à cutícula e, além disto, altera sensívelmente a sua consistencia conforme a temperatura externa. Sua elasticidade (parafina com ponto de fusão entre 56° e 58° C) é muito elevada

de modo que, em cortes finos, a camada de parafina começa a quebrar-se no momento de cortagem. Afim de evitar êstes defeitos, experimentamos muitas substâncias adicionais à parafina como cêra de abelha, cêra de cocídeos, estearina, asfalto puro etc. recomendadas por vários autores.

Os melhores resultados obtivemos conforme o seguinte método:

Dissolve-se uma certa quantidade de látex (borracha natural) cortada em pequenas porções, em parafina na estufa a 60°. Êste processo leva duas semanas. Misturam-se de vez em quando. O latex não dissolve-se inteiramente na parafina, ficando um resíduo no fundo do recipiente. Depois de filtrar o soluto, no interior da estufa (a filtragem demora alguns dias), dilui-se o filtrado com parafina pura na proporção de 1 parte do soluto de latex por 4 a 5 partes de parafina.

Esta parafina, um pouco amarelada ou acinzentada, conforme a qualidade do latex, adere firmemente à cutícula e é bem flexível, mas possui bastante resistência para sustentar o objeto no momento da pressão pela navalha do micrótomo.

Êste método usamos, também com os melhores resultados para emblocar material sem cutícula (músculos, ovos, gônadas etc.) que foi cortado com menos de 2 micra no micrótomo de precisão.

c) INCLUSÃO DE PEQUENOS OBJETOS:

— 1: Fixar o material e lavar em água destilada.
— 2: Colocar num vidro de relógio um pouco de um soluto a 2% de Agar em água destilada e deixar até êste se torna gelatinoso. A espessura da camada de Agar solidificado deve ser de aproximadamente 2 mm.
— 3: Pôr o material fixado sôbre o Agar e retirar o excesso de água.
— 4: Cobrir, imediatamente depois, a fôlha de Agar (inclusive o material) com outra porção de Agar, aquecido até 50°. Deixar solidificar.
— 5: Submergir o vidro de relógio com o Agar em álcool a 70%, onde o preparado endurecerá e soltar-se-á do vidro.
— 6: Cortar o Agar com o material em bloco desejado e tingir o mesmo em álcool a 90% com pouco de orange, fucsina ou outro corante, para não perder o bloco na parafina e para facilitar a orientação no micrótomo.
— 7: Desidratar o bloco e infiltrar com parafina conforme o item V. b).

Em vez de corar o bloco, muitas vêzes torna-se mais prático de tingir o material depois da fixação durante a lavagem, antes de colocar no Agar.

VI. Cortagem.

a) DESCARREGAR O MICRÓTOMO.

Sob certas condições meteorológicas (especialmente em ar frio, antes e depois da passagem de frentes frios ou massas de ar frio, em dias de forte convecção) a eletricidade estática no metal do micrótomo aumenta tanto que os cortes aderem à navalha ou ao bloco de parafina. Para desviar o excesso de eletricidade ligamos o micrótomo com a terra (ligação por arame de cobre entre o parafuso que fixa a navalha, e um bico de gas ou água).

b) TIPOS DE MICRÓTOMOS.

Os micrótomos comuns (onde o transporte do bloco resulta diretamente da rotação de um microparafuso) possuem bastante precisão para cortes de 5 μ ou mais e para cortes em grandes séries. Para estudos citológicos e cariológicos, e

para observação de cortes sem coloração sob contraste de fases, precisamos de cortes uniformes de 1 a 2 μ. Os micrótomos citados não satisfazem estas necessidades. Obtivemos os melhores resultados com o micrótomo de precisão de Jung-Heidelberg, que funciona com navalha móvel e bloco transportado sôbre um plano ligeiramente inclinado. Conseguimos com êste aparelho, sob condições normais (parafina com látex, temperatura entre 25° e 30°, sem ventilação), cortar o material sem cutícula em fileiras ininterruptas com grossura de 0,5 μ. O aparelho, lògicamente necessita de uma limpeza rigorosa, cada vez, antes do uso, pois o acúmulo de poeira sôbre as partes deslisantes das peças móveis, altera a grossura, e ainda uma camada grossa de óleo sôbre as referidas partes metálicas pode provocar oscilações.

VII. Coloração.

a) HIDRATAÇÃO E DESIDRATAÇÃO DE CORTES SÔBRE LÂMINAS.

Os cortes que se colam na lâmina pelo adesivo (albumina-glicerina, veja sob item VII b), fixam-se melhor aquecendo a lâmina, ligeiramente, numa chama pequena de gás, até a parafina começar justamente, a derreter-se. Êste método não se deve aplicar em cortes destinados aos exames histológicos e citológicos.

A hidratação e desidratação de cortes, até a montagem em bálsamo de Canadá, seguem aos seguintes itens:

— 1: Xilol para dissolver a parafina (até 5', permanência prolongada dos cortes em xilol diminua a afinidade dos tecidos por vários corantes).
— 2: Álcool absoluto, 1' a 2'.
— 3: Álcool a 96%, 1' a 2'.
— 4: Álcool a 70%, 1' a 2'.
— 5: Álcool a 40%, 1' a 2'.
— 6: Água destilada, até 5'.
— 7: Coloração dos núcleos.
— 8: Água destilada (incluir aqui coloração contraste de corantes aquosos)
— 9: Álcool a 40%, 1' a 2'.
—10: Álcool a 70%, 1' a 2'.
—11: Álcool a 96%, 1' a 2' (incluir aqui coloração contraste de corantes alcoólicos).
—12: Álcool absoluto, 1' a 2'.
—13: Álcool absoluto, 1' a 2'.
—14: Mistura conforme o item IV c, 5'.
—15: Xilol, 3' a 5'.
—16: Montagem em bálsamo de Canadá (use um bálsamo bem líquido: Deixe descorrer o excesso de bálsamo colocando a lâmina, em posição vertical, sôbre papel de filtro; para diminuir a camada de bálsamo entre lâmina e lamínula, colocar-se um pequeno pêso — pedaço de chumbo — sôbre a última.

b) ADESIVO DE ALBUMINA E GLICERINA:

Mistura-se partes iguais de clara de ovo da galinha e glicerina pura e neutra, deixe a mistura 1 a 2 dias na temperatura do ambiente, agitando o vidro fortemente de vez em quando. Depois de filtrar adicione ao líquido alguns cristais de ácido tímico (timol) ou algumas gôtas de formol para evitar o crescimento de cogumelos.

c) CONSERVAÇÃO DE CORANTES SENSÍVEIS:

Os corantes que sofrem, depois de um certo tempo, uma superoxidação e, com isso, perdem a sua intensidade de coloração (como tôdas as hematoxilinas) conservam-se inalterável, durante muitos mêses, na geladeira.

d) EXAME DE CORANTES:

Para diferenciar entre corantes ácidos e alcalinos, mistura-se o soluto aquoso do corante a examinar com soluto saturado aquoso de ácido pícrico. No caso que se forma uma precipitação, o corante é de natureza alcalina (corante para núcleos), no caso que não se forma uma precipitação, o corante é de natureza ácida (corante para protoplasma).

e) COLORAÇÃO PARA ORIENTAÇÃO GERAL I.:

Em vez de usar a coloração com azocarmin, segundo Heidenhain (modificação do antigo método de Mallory), aplicamos com bons resultados, para uma orientação geral sôbre a composição dos cortes, o seguinte método:

— 1: Hidratar os cortes até água destilada.
— 2: Coloração em "Kernechtrot" (nuclear fast red), 10' a 20.
— 3: Água destilada.
— 4: Ácido fosfotungstênico (5% em água destilada), 1 a 2 horas.
— 5: Água destilada.
— 6: Coloração em azul de anilina-orange GG, 2 a 3 horas.
— 7: Água destilada.
— 8: Álcool a 40%.
— 9: Álcool a 70%.
—10: Álcool a 96% (diferenciar, controlando a descoloração no microscópio).
—12: Álcool absoluto.
—13: Mistura conforme o item V c.
—14: Xilol.
—15: Bálsamo de Canadá.

Solutos:

A. "Kernechtrot": Dissolve-se 0,1 g do corante em 100 cm^3 de um soluto aquoso de sulfato de alumínio a 5% aquecendo-o até 90° e filtrando-o depois de ter esfriado.
B. Azul de anilina-orange GG: Dissolve-se 0,5 g de azul de anilina (solúvel em água) e 2 g de orange GG em 100 cm^3 de água destilada, adicionando-se depois 8 cm^3 de ácido acético. Depois ferver, ligeiramente, esfriar e filtrar. Para o uso dilui-se 1 parte deste soluto com 2 ou 3 partes de água destilada.

Caso que se deseja analisar as estruturas mais finas (tonofribilas, membranas, fibrilas protoplasmáticas e cuticulares) é indispensável a aplicação de ácido fosfotungstênico; para uma ligeira análise de um corte, sem perder muito tempo, podemos abandonar o tratamento pelo citado ácido.

f) COLORAÇÃO PARA ORIENTAÇÃO GERAL II.:

Existem vários métodos, para orientação geral sôbre a composição de um corte, baseados em uma coloração dos núcleos com safranina, carmim etc., e em uma coloração contraste com indigocarmim-ácido pícrico. Para evitar as dificuldades permanentes que tivemos com os corantes safranina e carmim (provàvelmente

causados pela temperatura elevada e instável, e ainda pela variação qualitativa dos diferentes fabricados), substituímos êstes corantes por "Kernechtrot" (nuclear fast red).

— 1: Hidratar os cortes até água destilada.
— 2: Coloração em "Kernechtrot", 10' a 20'.
— 3: Água destilada.
— 4: Coloração contraste em indigocarmim-ácido pícrico, 1' a 2'. (1 g do corante dissolvida em 300 cm³ de um soluto aquoso saturado de ácido pícrico).
— 5: Água destilada (ràpidamente).
— 6: Mergulhar duas a três vêzes em ácido acético a 1% em água destilada.
— 7: Água destilada (ràpidamente).
— 8: Lavar ràpidamente em álcool a 70%.
— 9: Diferenciar em álcool a 96%.
—10: Desidratar e montar em bálsamo.

g) COLORAÇÃO PARA ORIENTAÇÃO GERAL III.:

Afim de aumentar o contraste depois de uma coloração com hematoxilina segundo Weigert, usamos (segundo Domagk) a combinação ácido pícrico-vermelho de tiazina:

— 1: Hidratar os cortes até água destilada.
— 2: Coloração em hematoxilina segundo Weigert, 60 a 90 segundos.
— 3: Mergulhar em carbonato de lítio a 5% em água destilada.
— 4: Água corrente, 10' a 20'.
— 5: Coloração contraste em ácido pícrico-vermelho de tiazina, 3' a 5'.
— 6: Água destilada (ràpidamente).
— 7: Álcool a 96% (controlar a diferenciação no microscópio).
— 8: Álcool a 100% (duas vêzes).
— 9: Mistura conforme o item V c.
—10: Xilol e bálsamo de Canadá.

Na coloração nuclear pode-se substituir a hematoxilina por carmim dissolvido em alúmem de crômo.

Solutos:

A. Hematoxilina segundo Weigert:

Primeiro soluto-mãe: 1 g de hematoxilina em 100 cm³ de álcool a 96%. Segundo soluto-mãe: 1,16 g cloreto de ferro em 96 cm³ de água destilada, adicionando-se depois 1 cm³ de ácido clorídrico (peso específico: 1,124). Antes do uso, mistura-se partes iguais dos dois líquidos. A mistura é instável.

B. Carmim em alúmen de crômo:

Dissolve-se 6 g de alúmen de crômo puro em 100 cm³ de água destilada quente e adiciona-se depois 1 g de carmim; deixar ferver 15' e esfriar para filtrar em seguida.

Duração da coloração 30' até algumas horas. Não há perigo de supercoloração.

C. Ácido pícrico-vermelho de tiazina:

Adiciona-se 7,5 cm³ de um soluto a 1% de vermelho de tiazina à 100 cm³ de um soluto saturado de ácido pícrico em água destilada.

h) COLORAÇÃO DE ESTRUTURAS CELULARES:

Uma única simples coloração com hematoxilina férrica, especialmente, depois de uma fixação com ácido ósmico, e líquidos que contêm sublimado, não produz bastante contraste para diferenciar entre os diversos componentes da célula. Para aumentar o contraste coramos e descoramos os cortes repetidamente:

— 1: Hidratar os cortes até água destilada.
— 2: Impregnação com alúmen de ferro a 2,5% a 3%, 12 horas ou mais.
— 3: Água destilada, 2'.
— 4: Hematoxilina férrica, 12 horas ou mais.
— 5: Água destilada.
— 6: Alúmen de ferro a 2,5%, até descorar os cortes.
— 7: Água destilada.
— 8: Hematoxilina férrica, 3 a 6 horas.
— 9: Água destilada, 2'.
—10: Repetir os itens 6 a 9 uma ou duas vêzes.
—11: Água corrente, 2 horas ou mais (depois da diferenciação definitiva em alúmen de ferro).
—12: Água destilada e desidratação até xilol.
—13: Montagem em bálsamo de Canadá.

i) COLORAÇÃO DOS GÂNGLIOS (NÚCLEOS E SUBSTÂNCIA TIGRÓIDE):

— 1: Hidratar até água destilada.
— 2: Coloração em galocianina-alúmen de crômio, 24 a 48 horas.
— 3: Água destilada.
— 4: Álcool a 40%.
— 5: Álcool a 70%.
— 6: Álcool a 96%.
— 7: Coloração contraste em cromotrop 2R, 1% em álcool a 96%, 10 a 20'.
— 8: Álcool a 96%.
— 9: Desidratar, clarificar e montar.

Soluto de galocianina-alúmen de crômo:

Dissolve-se 0,15 g de galocianina em 100 cm³ de um soluto de alúmen de crômo a 5% em água destilada; ferver (5'), deixar esfriar e, depois da filtragem, completar até 100 cm³. Êste soluto, com P_H 2,09, cora sòmente os núcleos e, selectivamente, a substância tigróide; caso que se deseja uma coloração de outras estruturas das células nervosas, da neuroglia e dos dendritos e neuritos, precisa-se de um aumento do P_H até 2,60 por meio do seguinte tampão (segundo Einarson):

Soluto A: 5,30 g Na_2CO_3 em 1 000 cm³ água destilada.

Soluto B: 19,10 g $Na_2B_4O_7$ (+ 10 H_2O) em 1 000 cm³ água destilada.
O tampão, com P_H 11, compõe-se de 97,5 cm³ do soluto A e 2,7 cm³ do soluto B. Para obter um soluto de galocianina com P_H 2,60 mistura-se partes iguais do tampão e do soluto normal de galocianina (citado em cima).

k) COLORAÇÃO DE LIMITES CELULARES:

Para demonstrar os limites celulares e realçar mais as estruturas fibrilosas, (especialmente as tonofibrilas, cauda dos espérmios, membranas etc.) fixamos

e impregnamos, concomitantemente, os tecidos em ácido ósmico e nitrato de prata. Chamamos atenção que o método dá bons resultados, sòmente, em peças com menos de 1 mm de espessura.

— 1: O tecido isolado é lavado em soluto isotônico (veja sob item VIII a).

— 2: Fixação e impregnação em um soluto de nitrato de prata a 2% em um soluto de ácido ósmico a 0,1%; duração 30' até 2 horas conforme a grossura do objeto.

— 3: Água destilada, lavar ligeiramente.

— 4: Ácido pirogálico a 1% ou hidroquinone a 1% em água destilada. Expor à luz do sol a fim de reduzir o nitrato em prata metálica.

— 5: Desidratar e incluir em parafina para depois cortar com menos de 5μ de grossura.

— 6: Hidratar os cortes até água destilada, corar em galocianina (veja sob item VII i) ou "Kernechtrot" (veja sob item VII e), 24 horas ou 20', respectivamente.

— 7: Água destilada.

— 8: Álcool a 40%.

— 9: Álcool a 70%.

—10: Álcool a 96%.

—11: Coloração contraste com vermelho congo-orange, para distinguir a cutícula e a musculatura, 30' na estufa a 60°.

—12: Desidratar até xilol e montar em bálsamo.

Soluto de vermelho congo-orange GG:

Mistura-se partes iguais de um soluto saturado de vermelho congo em álcool a 96% e de um soluto saturado de orange GG em álcool a 70%.

O líquido de fixação e impregnação pode ser substituído pelas seguintes misturas:

A. 100 cm^3 de ácido nítrico a 5% e 10 cm^3 de nitrato de prata a 1%.

B. 3 partes de formol (a 40%), 1 parte de ácido nítrico a 10% e 1 parte de nitrato de prata a 1%.

C. 3% de nitrato de prata em ácido ósmico a 0,5% em água destilada.

VIII. Diversas técnicas.

a) SOLUTOS ISOTÔNICOS PARA INSETOS:

1. Dissolve-se em 1 000 cm^3 de água destilada: 13 g de NaCl, 0,42 g de KCl e, depois da dissolução dos sais, 0,25 g de $CaCl_2$.

2. Dissolve-se em 1 000 cm^3 de água destilada: 3,5 g NaCl, 0,05 g de KCl e 0,2 g de $NaHCO_3$ e, depois da dissolução dos sais, 0,1 g de $CaCl_2$.

3. Dissolve-se em 1 000 cm^3 de água destilada: 7 g de NaCl e 3 g de KCl.

Êstes solutos possuem uma concentração suficiente de sais para evitar alterações postmortais durante 10' ou 15'; observamos os movimentos peristálticos do vaso dorsal, do intestino e dos diafragmas ainda até 30' depois da preparação.

b) INJECÕES NAS TRAQUÉIAS:

Sôbre injeção de sulfito de cobalto, no sistema respiratório dos insetos, encontra-se um método, relativamente simples, publicado por V. B. WIGGELSWORTH, em Quart. Journ. Micr. Sci., Vol. 91: 217-224.

c) EXPULSÃO DE SECREÇÕES:

Para acelerar ou bloquear a formação e a saída das secreções de células glandulares internas, usamos pilocarpina e atropina, respectivamente:

A. Aceleração da atividade glândular:

Injeção, no hemocélio, de pilocarpina (pilocarpinum hydrochloricum) a 0,1% em soluto isotônico. Depois de 10' a 15' injeta-se ácido ósmico a 2%, espera-se 20' para depois isolar a glândulas. Em seguida, o objeto é tratado como qualquer outro material fixado em ácido ósmico. No caso de glândula ragiócrina usa-se, em vez de ácido ósmico, álcool absoluto puro.

B. Bloqueio da atividade glândular:

Injeção, no hemocélio, de atropina (atropinum sulfuricum) a 0,5% em soluto isotônico. Depois de 5' a 10' injeta-se ácido ósmico a 2% e, depois de 20', isola-se a glândula. Em seguida, o objeto é tratado como qualquer outro material fixado em ácido ósmico. No caso de glândula ragiócrina usa-se, em vez de ácido ósmico, álcool absoluto puro.

d) DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO ENTRE O PÊSO DO ANIMAL VIVO E DA MASSA CUTICULAR:

— 1: Determinar o peso do animal vivo.
— 2: Colocar o animal morto em KOH a 10% e ferver no banho maria.
— 3: Lavar em água quente e colocar entre algumas folhas de papel de filtro, excercendo-se algumas vêzes uma forte pressão sôbre o objeto.
— 4: Repetir êste último processo várias vêzes até o papel ficar limpo.
— 5: Secar a massa cuticular na estufa e, em seguida, deixar o objeto alguns dias sôbre pentóxido de fósforo ou outra substância higrófila.
— 6: Determinar o peso da massa cuticular e calcular a relação entre os pesos inicial e final.

e) DEMONSTRAÇÃO DOS ÓRGÃOS DE FAGOCITOSE:

— 1: Injetar, no hemocélio, uma suspensão de carmim ou tinta nanquim, diluida em soluto isotônico.
— 2: Depois de algumas horas, dissecar o animal e observar sob o microscópio binocular.
As partículas de carmim ou tinta nanquim acumulam-se nos órgãos de fagocitose.
No caso de animais pequenos é aconselhável fixar o material e controlar a série de cortes sem coloração sob contraste de fases.

f) PREPARAÇÃO DE PEQUENOS OBJETOS (SEGUNDO A. LUTZ):

A. LUTZ (1920) publicou um método para incluir e conservar pequenos objetos afim de poder examinar os mesmos de todos os lados no microscópio. Experimentando êste método, obtive bons resultados, pois êste permite observar todos os detalhes o que não se consegue com preparações em bálsamo de Canadá entre lâmina e lamínula.

Apresento, em seguida, um resumo do método (publicado, por extenso, de A. LUTZ em: A Fôlha Médica, Vol. 1, n.º 7, em 1920), agradecendo à Dra. BERTHA LUTZ pela gentileza de permitir a publicação resumida:

— 1: Objetos sem pigmentação, fixados em formol, álcool etc., são diafanizados por qualquer líquido clarificante como fenol, terpinol,

eucaliptol, salicilato de metila e benzoato de benzila na proporção de 5:3, etc. Objetos pigmentados são branqueados em fenol ou, em caso de forte pigmentação, em diafanol. Transpor os objetos, depois da diafanização, no líquido final que é o próprio líquido clarificante, citado em cima. Caso que se deseja examinar o objeto apenas externamente, basta uma inclusão em álcool-glicerina (1 parte de álcool absoluto, 1 parte de glicerina e 1 parte de água destilada). Nêste método pode-se incluir, também, uma coloração em vermelho-congo, fucsina etc.

— 2: Colocar o objeto num tubo capilar de vidro, com um comprimento pouco menor de uma lâmina, fechado numa extremidade. Depois encher o tubo com o líquido final. Esta manipulação se faz por meio de centrifugação ligeira ou de uma seringa de injeção, deixando alguns milímetros do tubo sem líquido.

— 3: Fechar o tubo cuidadosamente sôbre uma chama de gás.

— 4: Para observação coloca-se o tubo numa placa de vidro que contêm o mesmo líquido de inclusão. As paredes do tubo desaparecem, òpticamente, quase por completo. Os objetos podem ser examinados de todos os lados.

— 5: Para conservar o material, corta-se pequenas folhas de cartolina em tamanho de uma lâmina (porta objetos) nas quais, por incisões duplas e obliquas, se formam duas alças que seguram o tubo sôbre a folha de cartolina. As indicações são anotadas sôbre a mesma cartolina. O material pode ser guardado em caixas para lâminas.

Modificações no Plancton da Enseada de Inhauma, antes e depois da Poluição (*)

por

Luiza Krau

Nós apresentamos os resultados de comparação entre as amostras de plancton capturadas hoje e as que foram capturadas há 10, 20, 30 e 40 anos atrás.

Esses estudos puderam ser feitos, graças à instalação da Estação de Hidrobiologia, que funciona na Ilha do Pinheiro, na Enseada de Inhauma, e graças ao material antigo guardado em nosso laboratório. A Estação de Hidrobiologia começou a funcionar, em 1937, sob a orientação do Prof. Dr. Henrique de Aragão que, em 1948, não só aumentou suas instalações como aumentou o pessoal técnico.

Houve um serviço em comissão onde se trabalhou em Hidrobiologia, denominado "Inspectoria Federal da Pesca" que funcionou com pessoal do Museu Nacional, do Ministério da Marinha, do Serviço de Pesca, e do Instituto Oswaldo Cruz. Os estudos científicos foram feitos nos seguintes laboratórios: o de Biologia Marinha, do então Instituto de Manguinhos, oferecido por Oswaldo Cruz, no antigo Gabinete de Zoologia do Departamento de Pesca, e num pôsto de Ostreicultura que houve na Praia Vermelha, da Inspetoria de Pesca.

Esse serviço, feito por cooperação de várias repartições dispunha de embarcações próprias para navegar em alto mar, como o navio de pesquisas que foi chamado de "Ipeca" devido a ser um verdadeiro vomitivo para os pesquisadores. Também o Instituto de Manguinhos possuia algumas lanchas que navegavam pela Baia de Guanabara, para trazer o pessoal à Manguinhos. Atracavam na antiga ponte, hoje aterrada, existente nos terrenos do Instituto Oswaldo Cruz, na Avenida Brasil, do lado do mar. Com esses recursos, os pesquisadores Drs. Gomes de Faria, Olympio da Fonseca Filho, Henrique de Aragão, Cezar Pinto e Marques da Cunha conseguiram coletar abundante material microscópico de nossa baia. Deste material, possuímos algumas lâminas de plancton da Enseada de Inhauma, capturado pelo Dr. Henrique de Aragão, em maio de 1918.

(*) Entregue a publicação, em 14 de julho de 1958.

Comparando esse plancton de 1918 com o material capturado pelos Drs. Lejeune de Oliveira e Nogueira Penido, em 1944 e com o plancton atual, notamos grande diferença.

O plancton de 1918 era de regime de águas puras, tinha grande número de Peridinios, de *Ceratium*, de diatomáceas *Centrales*, igual ao material que se captura hoje, fora da barra, como podemos ver conforme a lista abaixo.

LISTA DO MATERIAL CAPTURADO NA ENSEADA DE INHAUMA, EM MAIO DE 1918.

FITOPLANCTON

Classe CHRYSOPHYCEAE

Silicoflagellatae

Família *Ebriaceae*: *Ebria tripartita* (Schum.) Lamm.

DYNOPHYCEAE

Peridiniales, família *Peridiniaceae*

Peridinium oceanicum Aurivillius

Família *Ceratiaceae*

Ceratium setaceum Joergensen

BACILLARIOPHYCEAE (Diatomáceas)

Ordem Centrales

família *Discaceae*

Melosira borreri Greville
Paralia sulcata (Ehrenberg) Cleve
Coscinodiscus vigilans A. Schmidt
Coscinodiscus subtilis Ehrenberg

família *Soleniaceae*

Rhizosolenia setigera Brightwell
Rhizosolenia schrubsolei Cleve
Rhizosolenia styliformis Brightwell

família *Biddulphiaceae*

Bacteriastrum furcatum Shabd.
Chaetoceras coartactum Lauder
Chaetoceras didymum Ehrenberg
Biddulphia sinensis Grev.
Biddulphia favus Ehrenberg
Biddulphia mobilenisis (Balley) Gruen.

família *Fragilariaceae*

Thalassiothrix sp.

ZOOPLANCTON

Phylum PROTOZOA

Classe CILIATA

Ordem Spirotrichida

sub-ordem TINTINOIDEA

Cytarocylis ehrenbergi Imhof 1886

Phylum ARTHROPODA

Classe CRUSTACEA

Sub-classe COPEPODA

Família Acartiidae

Acartia lillgeborghii Giesb.

Família Paracalanidae

Paracalanus parvus (Claus)

Família Oithonidae

Oithona nana Giesb.

Notamos a presença de grande número de copépodos verdadeiramente marítimos, como o *Paracalanus parvus, Oithona nana, Acartia lilljeborghi,* que encontramos também no interior da Baia de Guanabara, mas sòmente em águas puras.

Examinando-se mais tarde, em 1944 o plancton capturado no mesmo local verificou-se profunda mudança. Quasi todos aqueles espécimes de alto mar já não povoavam mais a Enseada, havendo desaparecimento dos *Ceratium, Melosira, Ebria, Bacteriastrum, Rhizosolenia,* etc. Havia predominância de crustáceos em forma larvaria, larvas de cirrípedes, larvas de siris da família *Portunidae,* vários estadios larvários de caranguejos e guaiás, estadios larvários de camarões — desde os jovens *nauplius, metanauplius* as larvas *protozoés,* os *zoés,* as larvas *megalops* e *Mysis* até ao jovem camarão. Encontrávamos larvas de moluscos lamelibranquios e gasterópodos. Das diatomáceas haviam mais da ordem *Pennales* que *Centrales* (*Pleurosigma, Navicula* e *Bacillaria paradoxa*).

A poluição aumentou consideravelmente de 1953 até os dias de hoje. O plancton com predominância de larvas de crustáceos desapareceu. As numerosas diatomáceas *Pennales* também diminuiram. Não se vê mais clorofíceas, nem larvas de *Cnidária* de pólipos nem de moluscos.

Atualmente na maré baixa, a água fica completamente preta, o plancton coletado hoje consta de grãozinhos pretos que, examinados ao microscópio são aglomerados de bactérias e filamentos de *Oscillatoriaceae,* e milhões de protozoários ciliados. Esses protozoários cresceram em grande número e vieram da fermentação de detritos orgânicos que se acumularam nas praias da ilha: grande quantidade de sardinhas e pequenos peixes mortos, comida cozida trasida do lixo do Cajú, junto com

corpos de animais domesticos já em decomposição, além de poluição fecal. Sòmente nas marés muito altas de sizigia e de equinóxio na preamar é que entra raríssimamente algum Copépodo própriamente marítimo assim mesmo em águas de passagem. O que predomina nas águas de maré média, vazante, ou maré baixa, são muitas bactérias entre elas muitas *Sarcinas, Streptococcus, Thiospiras* e muitas esquizofíceas do gênero *Oscillatoria* sendo comum a *Oscillatoria putrida.* Os protozoários do gênero *Paramecium, Vorticella* e *Stylonichia* que se nutrem de bactérias estão hoje no seu habitat favorável.

Atualmente há desenvolvimento em massa de bactérias, milhões de germes por centímetro cúbico, os seres unicelulares são os que predominam no plancton, a maioria vivendo bem em anaerobiose, e mesmo nas águas com o mais intenso cheiro de gás sulfídrico.

Se êstes estudos fossem feitos em água doce, chamariamos êste plancton de característico de regime polisaprobio. Houve ligeira melhoria no aspecto das águas em dezembro e janeiro. No início dêsse 1958, época em que o mar arrancava a Praia do Leme, fora da barra, a influência também se fêz sentir dentro da Baia de Guanabara, aqui na Enseada de Inhauma por vêzes vinham águas mais limpas.

Mas não agora, em 10 de julho de 1958, às 11 horas, maré enchente, tem-se uma água negra como carvão, com borra de protozoários por cima, e grumos de *Myxophyceae,* sendo a maioria *Oscillatoriaceae* como plancton, caracteristicamente indicadoras de águas excessivamente poluidas.

Diferenciação entre Listeria monocytogenes e Erysipelothrix rhusiopathiae com o Clorêto de Trifeniltetrazólio (*)

Vinicius Moreira Dias e Niber da Paz M. da Silva

Pela semelhança em suas propriedades culturais e bioquímicas, foram as listérias aproximadas do germe causador da erisipela porcina, pretendendo Wilson & Miles (6) incluí-los no gênero *Erysipelothrix* com as espécies *monocytogenes* e *rhusiopathiae*. Entretanto, Barber (1) e Julianelle (4) em estudo comparativo dos referidos gêneros, não admitem essa possibilidade.

Observando, paralelamente, as características morfológicas e citoquímicas de *L. monocytogenes* e *E. rhusiopathiae*, tivemos a oportunidade de verificar o seu comportamento quando em contato com clorêto de 2, 3, 5 — trifeniltetrazólio (TTC).

Os sais de tetrazólio têm sido experimentados por muitos pesquisadores em diferentes germes, visando a demonstrar zonas de atividade desidrogenásica dentro do corpo bacteriano pelo aparecimento de granulações coradas de formazana, resultantes da transformação do tetrazólio, revelando a presença de mitocôndrias nas bactérias.

Êste trabalho, além de confirmar pesquisas anteriores em relação a mitocôndrias na célula bacteriana, tem como objetivo descrever um método diferencial, simples e rápido, para os gêneros *Listeria* e *Erysipelothrix*.

As experiências foram orientadas em dois sentidos: 1.º) — verificar macroscòpicamente, em meios líquido e sólido, a atividade redutora para o TTC usando amostras pertencentes aos dois gêneros; 2.º) — fazer o estudo morfológico e citoquímico, em microscopia ótica e electrônica, das bactérias tratadas com TTC.

MATERIAL E MÉTODOS

Usamos amostras típicas, lisas, de *L. monocytogenes*, (nos 7 973, 5 348, 5 105, 5 214 da coleção de Seeliger, respectivamente tipos sorológicos I, II, III e IV de Paterson) e culturas de *E. rhusiopathiae* (n.os 1, 7, 11, 27, 37 da coleção de Wix).

(*) Seção de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro — Brasil.

Recebido para publicação em 11/6/1958.

I — *Redução em meio líquido*

Os germes foram semeados em 2 ml de caldo simples mais 5% de sôro normal de cavalo, em tubos de hemólise, e incubados durante 24 hs., a 37°C. Então, foi adicionado 0,1 ml de uma solução aquosa, esterilizada, a 1%, de clorêto de 2, 3, 5 — trifeniltetrazólio ("Synthetical Laboratories", Chicago, U.S.A.) para cada ml de meio de cultura com crescimento bacteriano. Os tubos postos à temperatura ambiente (25°C), ou na estufa (37°C), foram observados, regularmente, em prazos curtos.

Desde os 5 minutos iniciais, quando foi feito o primeiro exame, notou-se nos tubos com listérias o aparecimento de coloração vermelha (fig. 1), característica da formazana, que se acentuava, com o decorrer do tempo, de baixo para cima (figs. 2, 3, 4 e 5), devido à sedimentação natural dos germes ou, talvez, a condições de anaerobiose, que favoreciam a reação. Ao fim de 24 hs. a côr, que aumentara gradativamente, era intensa em tôda a cultura.

Nos tubos contendo *E. rhusiopathiae* (figs. 1, 2, 3 e 4), submetidos a igual tratamento com TTC e em condições experimentais idênticas, só foi percebida discreta coloração rósea aproximadamente após 2 hs. de contato. Ao fim de 24 hs., a intensidade de côr não se igualava à dos tubos com *L. monocytogenes*.

II — *Redução em meio sólido*

Placas de Petri com 15 ml de agar simples com 5% de sôro normal de cavalo, contendo 0,1 ml de solução aquosa, esterilizada, de TTC a 1%, foram semeadas com *L. monocytogenes* e incubadas a 37°C. Depois de 24 hs., notou-se a presença de colônias coradas em vermelho, o que já havia sido constatado por Gray & Cols. (3).

Placas idênticas, semeadas com *E. rhusiopathiae,* não apresentaram mudança de côr, mesmo com 24 hs. de incubação a 37°C.

Colocando discos de papel de filtro, prèviamente umedecidos com TTC e dessecados, diretamente sôbre *L. monocytogenes* crescidas em placa de agar sôro (cultura de 24 hs.) não se observou redução. O resultado foi também negativo, para os discos umedecidos na solução, ou quando utilizamos a técnica de tubos porosos, empregada na dosagem de penicilina.

III — *Estudo morfológico e citoquímico*

a) Ao microscópio ótico (ocular 10X e objetiva 90X), com luz artificial, em exame a fresco, foram observadas, primeiramente, as culturas em meio líquido, depois de tratadas durante 1 hora com TTC.

Depois, preparações foram feitas utilizando meio semi-sólido ou uma gôta da cultura (prèviamente fixada com formaldeído a 3%) e posta para secar naturalmente ou na estufa a 37°C.

Notamos que as listérias se apresentavam hialinas, de forma e dimensões normais, contendo uma, duas ou três granulações vermelho-púrpura, intracelulares, polares, bipolares e centrais.

No caso do *E. rhusiopathiae* os bacilos eram transparentes, morfològicamente normais mas não se encontravam granulações coradas intracitoplasmáticas.

b) Para a microscopia electrônica preparamos o material do seguinte modo: tubos com 2 ml do meio líquido, foram semeados com *L. monocygenes* e *E. rhusiopathiae,* a partir de culturas de 24 hs., em meio líquidos e crescidas à temperatura ambiente. Com 4 hs. de estufa, a 37°C, quando o crescimento bacteriano já era visível macroscòpicamente, adicionamos aos tubos de prova, 0,2 ml de solução aquosa, esterilizada, de TTC a 1% e incubamos mais 1 ou 2 horas nessa temperatura. Outros tubos foram preparados como testemunhas, sem TTC. Findo êsse tempo, fixamos as culturas com formol (4 gôtas de formaldeído a 40% para cada tubo), estabilizando, assim, a redução em formazana corada, então bem evidente nos tubos com listérias. Centrifugamos durante 30 minutos e, após desprezar os sobrenadantes, foram suspensos os diferentes sedimentos em água destilada esterilizada e feita nova centrifugação desprezando-se o sobrenadante. O material foi conservado em refrigerador, dum dia para o outro. As preparações para microscopia electrônica foram feitas por Hans Muth, da Secção de Microscopia Electrônica do I.O.C., de acôrdo com a técnica usual de montagem em membrana de parlódio e dessecamento por meio de calor.

Foi utilizado o microscópio electrônico RCA, tipo EMU-2C, para observação direta e para obtenção de fotografias da preparação simples e sombreada por meio de crômo em ângulo de 10°.

No exame do material não sombreado as listérias testemunhas apresentavam contôrno nítido e regular, freqüentemente agrupadas ou dispostas lado a lado. No corpo bacteriano, de citoplasma bastante denso, estruturas internas não foram fàcilmente vistas. Em alguns campos, notaram-se zonas mais escuras, intracitoplasmáticas, dispostas nas extremidades das células. Envolvendo estas, havia um halo diferenciado, que julgamos ser artifício proveniente de técnica (fig. 6).

Comparando as listérias submetidas ao TTC com as testemunhas, achamos seu aspecto diferente, apesar da dificuldade que encontramos em obter campos onde os germes não estivessem fortemente agrupados.

Nas preparações com TTC, os corpos bacilares não apresentavam a mesma regularidade no contôrno. O citoplasma parecia menos opaco, possuia granulações polares, algumas medianas e periféricas, entremeadas de zonas claras, possìvelmente vacúolos (fig. 7). Em uma das preparações (com TTC 2 hs.), vimos um campo apresentando formas alongadas, tendo zonas de condensação citoplasmática e com 1 ou 2 protuberâncias terminais e subterminais deformando o corpo da bactéria (fig. 8), o que fazia lembrar estruturas semelhantes observadas em *Proteus vulgaris* (5).

Estudando o material sombreado pareceu-nos menor a diferença entre as listérias tratadas ou não com TTC. Na testemunha (fig. 9), as células eram mais uniformes, de contôrno regular e condensação polar,

enquanto que, no material com TTC, havia retração citoplasmática na parte mediana da célula, sobressaindo, nos polos, granulações que supomos de formazana (fig. 10).

Incidentalmente observamos células em divisão, apresentando, ainda, septo transversal (fig. 10), confirmando a multicelularidade vista por Bisset (2) no período logarítmico de multiplicação bacteriana.

As bactérias do gênero *Erysipelothrix,* ao microscópio electrônico, pareceram-nos menos alteradas do que as listérias pelo tratamento com TTC. Efetivamente, a comparação entre o material testemunha (figs. 11 e 12) e o de prova (figs. 13 e 14) não deixa perceber modificações estruturais.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os sais de tetrazólio têm sido empregados como indicadores de atividade enzimática redutora em tecidos e bactérias, por vários pesquisadores. Também alguns acreditam que zonas citoplasmáticas de atividade redutora dêsses sais, evidenciadas dentro do corpo bacteriano pelo aparecimento de granulações de formazana, corresponderiam às mitocôndrias das células dos organismos superiores (para uma revisão vêr 5).

Em nossas experiências com *L. monocytogenes,* pudemos constatar, fàcilmente, em exame a fresco, a presença de estruturas coradas dentro das células, poucos minutos depois de adicionar-se TTC à cultura. Entretanto, com *E. rhusiopathiae,* num prazo de observação até de 2 hs., não conseguimos individualizar granulações vermelhas no interior do corpo bacteriano.

Esta diferença de comportamento levou-nos às seguintes conclusões:

a) a atividade enzimática redutora das bactérias pertencentes aos gêneros *Listeria* e *Erysipelothrix* para o clôreto de 2, 3, 5 — trifeniltetrazólio é diferente, principalmente dentro das 2 hs. iniciais de contato.

b) as listérias, quando cultivadas em meio líquido, reduzem imediatamente o TTC em formazana, que transmite à cultura intensa coloração vermelha. Em meio sólido, a redução é bastante demorada, sendo bem visível com 24 hs.

c) as bactérias do gênero *Erysipelothrix,* em condições experimentais idênticas, só reduzem o TTC após duas horas, sem atingir, mesmo ao fim de 24 hs., a intensidade de coloração observada para as listérias. Em meio sólido, com 24 hs., aparentemente não reduz.

d) o TTC é reduzido no interior das células de *Listeria,* formando granulações coradas de localização polar, bipolar e central.

e) o aparecimento rápido dessas granulações nas listérias faz-nos acreditar, confirmando estudos de outros autores, na existência de zonas no interior do corpo bacteriano, que podem estar relacionadas às mitocôndrias.

f) finalmente, a utilização do TTC, para as bactérias crescidas em meio líquido, poderá servir como uma prova a mais para a diferenciação dos germes pertencentes ao gêneros *Listeria* e *Erysipelothrix.*

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos Profs. Heinz Seeliger (Hygiene-Institut der Universität Bonn) e Paul Wix (Microbiology Dept.-University of Nottingham) pelas culturas gentilmente enviadas e ao Dr. Hans Muth (I.O.C.) pela valiosa colaboração na parte referente à microscopia electrônica.

SUMÁRIO

Experiências foram realizadas com bactérias dos gêneros *Listeria* e *Erysipelothrix,* em meios líquido e sólido, utilizando o clorêto de 2, 3, 5 — trifeniltetrazólio.

A atividade enzimática redutora das listérias para o TTC foi diferente da do *E. rhusiopathiae,* principalmente em meio líquido e nas horas iniciais de observação.

Preparações feitas para microscopia ótica e electrônica dos germes tratados com TTC revelaram a presença de granulações polares, bipolares e centrais dentro do corpo das listérias.

A evidenciação de granulações coradas de formazana, intracelulares nas listérias, confirma estudos anteriores quanto à possibilidade da existência de mitocôndrias nas bactérias.

SUMMARY

Based on a similarity of cultural and biochemical properties, Wilson and Miles (6) compared the microorganisms of listeriosis with those of swine erysipelas including them in the genus *Erysipelothrix* with the species *E. monocytogenes* and E. *rhusiopathiae.* However, Barber (1) and Julianelle (4), in a comparative study of both microorganims, do not admit that possibility.

Observing the morphological and citochemical characteristics of *L. monocytogenes* (N.os 7 973, 5 348, 5 105, 5 214, of the Seeliger collection) and *E. rhusiopathiae* cultures (N.os 1, 7, 11, 27, 37, of the Wix collection), both in phase "S", we were able to verify their comparative behavior when in contact with 2-3-5- triphenyltetrazolium chloride (TTC), "Synthetical Laboratories, Chigaco, , U.S.A."

1. To 1,0 ml of cultures of both microorganisms grown in plain broth plus 5% horse serum for 24 hours at 37°C, 0.1 ml of sterilized 1% aqueous solution of TTC was added. The tubes were left at room temperature (± 25°C) or in the incubator (37°C).

In the tubes with *L. monocytogenes* immediately appeared a red coloration (fig. 1) characteristic of formazan production, that became gradually more pronounced, from bottom to top (figs. 2, 3, 4, 5); at the and of 24 hours the color was intense throughout the tube.

In the tubes with *E. rhusiopathiae* (figs. 1, 2, 3, 4), only a faint pink coloration was seen after 2 hours; at the end of 24 hours, the intensity of color was not equal to that observed in tubes with *L. monocytogenes*.

2. Petri dishes with 15 ml of plain agar with 5% horse serum, containing 0.1 ml of 1% sterilized aqueous solution of TTC, were inoculated with *L. monocytogenes* and *E. rhusiopathiae,* and incubated for 24 hours at 37°C. Colonies of *L. monocytogenes* that developed presented a red color, indicative of formazan, as previously described by GRAY et al. (3), while the *E. rhusiopathiae* colonies did not show any coloration.

3. Disks of filter paper, previously soaked with TTC and dried were placed over the growth of *L. monocytogenes* in Petri dishes with plain agar plus 5% horse serum for 24 hours. No change in the color of the colonies was observed. The same negative result was obtained when the porous clay cylinder technique for measuring antibiotic activity was employed. With *E. rhusiopathiae* also negative results were obtained with the disk technique.

4. Wet preparations of the cultures after 1 hour of contact with TTC in the same conditions of item 1, were observed at 900X magnification. *L. monocytogenes* presented normal shape and dimensions, but one to three intracellular polar, bipolar and or central, red-purple granules were noted. *E. rhusiopathiae* bacilli were morphologically normal without colored cytoplasmic granules.

5. For the electron micrographs (RCA electron microscope Model EMU-2C) the microorganisms were grown in 2.0 ml of plain broth with 5% horse serum for 4 hours at 37°C; 0.2 ml of 1% aqueous sterile solution of TTC were added and the tubes reincubated for 1 or 2 hours more at 37°C. At the end of this time the microorganisms were fixed with formaldehyde (2 drops for each ml) centrifuged and washed with distilled sterile water. Cultures without TTC submited to identical treatment were used as controls.

Preparations of the sediments kept in the refrigerator were made on parlodium membranes, dried by heat and shadowed with chromium at an angle of 10°.

Comparing unshadowed *L. monocytogenes* treated with TTC with the controls, some differences were noted. In preparations with TTC (fig. 7) the contour of the bacillar bodies did not present the same regularity noted in the controls (fig. 6). The cytoplasm appeared less dense, with polar, central and or peripherical granules. In one of the preparations (fig. 8), elongated forms presented 1 or 2 protruding terminal of subterminal granules deforming the body of the bacteria.

In the shadowed material less differences between the microorganisms treated or not treated with TTC were found. In the controls (fig. 9) the cells were more uniform, with regular contour and polar condensation; while in the material with TTC there was cytoplasmic retraction in the median part of the cell, and polar granules probably of formazan (fig. 10).

Cells aparently in division presenting a transverse septum were frequently noted (fig. 10), seeming the multicellularity described by Bisset (2), in other microorganisms.

In bacteria of the genus *Erysipelothrix* morphological changes were not observed when treated with TTC. Comparison between the control material (figs. 11 and 12) and the test material (figs. 13 and 14) did not show structural modifications.

CONCLUSIONS: The differences in behaviour of the two microorganisms may justify the following conclusions:

a) The enzymatic reduction of TTC by the bacteria of the genera *Listeria* and *Erysipelothrix* is different, at least within the 2 first hours of contact.

b) When cultivated in liquid medium *L. monocytogencs* immediately reduces TTC to formazan, which transmits to the culture an intense red coloration. In solid medium, the reduction is well defined after 24 hours of incubation.

c) *E. rhusiopathiae* in identical experimental conditions, reduces TTC only after 2 hours, without reaching, even at the end of 24 hours, the intensity of colorations observed in *L. monocytogenes*. In solid medium, during a period of 24 hours, there is not reduction.

d) TTC is reduced inside the cells of *L. monocytogenes* forming polar, bipolar, and or central colored granules.

e) The rapid formation of these granules in *L. monocytogenes* confirming other studies, led us to believe in the existence of zones in the bacterial body, which may be related to the mitochondria (for a review of the subject see 5).

f) The use of TTC as one test for the differentiation between *L. monocytogenes* and *E. rhusiopathiae* is suggested, for microorganisms grown in liquid medium.

BIBLIOGRAFIA

1 — Barber, M., 1939, A comparative study of *Listerella* and *Erysipelothrix*. J. Path. and Bact. *48*: 11-23.

2 — Bisset, K. A., 1957, Multicellularity in Bacteria. Erg. Mikrob. Immun. Exp. Therapie. *30*: 1-36.

3 — Gray, M. L., Stafseth, H. J. & Thorp. F. J., 1953, Colonial Variation of *Listeria monocytogenes*. Bact. Proceedings, U.S.A.

4 — Julianelle, L. A., 1941, The identification of *Erysipelothrix* and its relation to *Listerella*. *J. Bact. 42* (3): 385-394.

5 — Mello, M. T., Silva, N. P. M. & Muth, H., 1957, Electron Microscopy of Granules in *Proteus vulgaris* treated with Triphenyltetrazolium chloride. J. Bact. *73* (5): 682-683.

6 — Wilson, G. S. & Miles, A. A., 1955, Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, 4th Edition: 479-488.

ESTAMPA 1

Fig. 1 — *Listeria monocytogenes* (La2 e La3) e *Erysipelothrix rhusiopathiae* (E1 e E7) — Testemunhas: tubos a esquerda. Germes tratados com TTC, durante 5 minutos, a direita. Observar o início de coloração vermelha nas culturas de listérias.

Fig. 2 — Idem. Tubos testemunhas e germes em contato com TTC durante 30 minutos. Aumento da côr na parte inferior dos tubos contendo listérias.

Fig. 3 — Idem. Tubos testemunhas e com TTC 1 hora. Coloração bem visível nas listérias, ausente nos tubos com *Erysipelothrix.*

Fig. 4 — Idem. Testemunhas e germes com TTC 2 horas. Redução do TTC em formazana corada nos tubos com listéria. Ausência de redução nos tubos com *Erysipelothrix.*

Fig. 5 — *Listeria monocytogenes* (La2 e La3). Tratada com TTC durante 5 e 30 minutos, 1 hora e 2 horas. Os primeiros tubos a esquerda são testemunhas. Observar o aumento progressivo da coloração vermelha indicadora da presença de formazana.

ESTAMPA 1

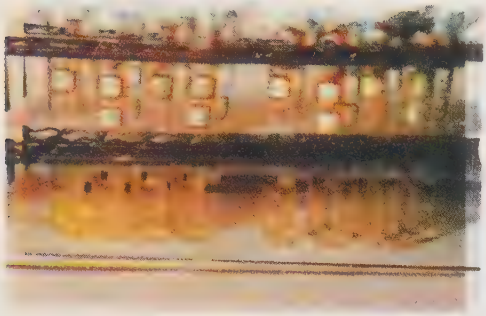


Fig. 1

Fig. 2

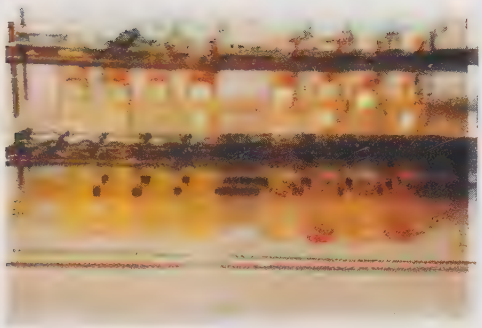


Fig. 3

Fig. 4

Fig. 5

ESTAMPA 2

Fig. 6 — *Listeria monocytogenes* — Testemunha fixada com formol. Células regulares; condensações citoplasmáticas polares (7200 X).

Fig. 7 — *Listeria monocytogenes* — Tratada com TTC 1 hora, fixada com formol. Granulações polares, bipolares, medianas e periféricas. Vacúolos. Citoplasma menos denso. (3920 X).

Fig. 8 — *Listeria monocytogenes* — Tratada com TTC 2 horas, fixada com formol. Protuberâncias terminais e subterminais, zonas de condensação citoplasmática. (7200 X).

Fig. 9 — *Listeria monocytogenes* — Testemunha fixada com formol. Citoplasma homogêneo retraído nos polos do bacilo. (Sombreada com crômo-10.º; 6300 X).

Fig. 10 — *Listeria monocytogenes* — Tratada com TTC 2 horas, fixada com formol. Retração do citoplasma, granulações polares; septo transversal freqüente. (Sombreada com crômo-10.º; 6300 X).

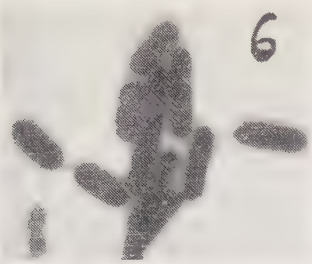
Fig. 11 — *Erysipelothrix rhusiopathiae* — Testemunha fixada com formol. Contôrno regular, condensações citoplasmáticas. (13000 X).

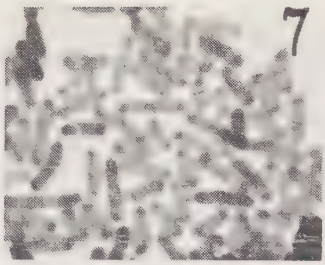
Fig. 12 — *Erysipelothrix rhusiopathiae* — Testemunha fixada com formol. Formas regulares. (Sombreada com crômo-10º; 7800 X).

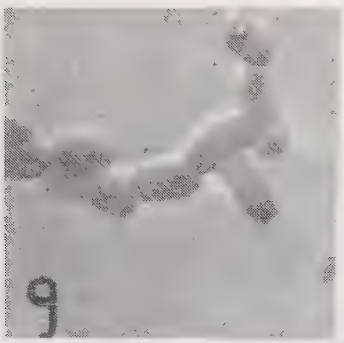
Fig. 13 — *Erysipelothrix rhusiopathiae* — Tratado com TTC 2 horas, fixado com formol. Citoplasma menos denso. (10300 X).

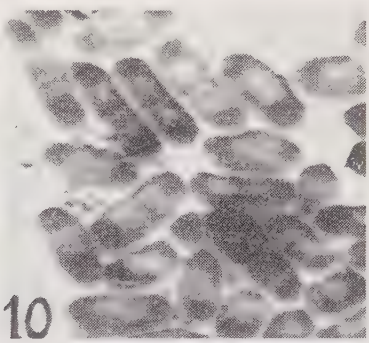
Fig. 14 — *Erysipelothrix rhusiopathiae* — Tratado com TTC 2 horas, fixado com formol. Citoplasma menos homogêneo, algumas condensações. (Sombreada com crômo-10.º; 7800 X).

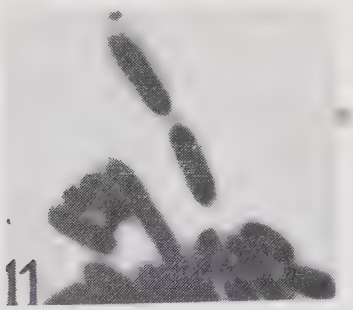
ESTAMPA 2

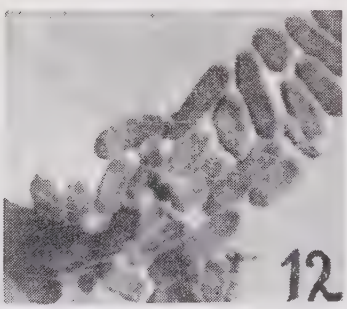


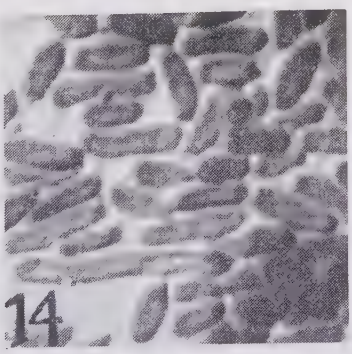












Estudos Sôbre "Oxyascarididae" (Travassos, 1920) (Nematoda, Subuluroidea) (*)

J. F. Teixeira de Freitas

(Com 22 estampas)

Em 1920 Travassos, em uma de suas contribuições para o conhecimento da fauna helmintológica brasileira, estabeleceu a família *Oxyascaridae,* para um só gênero então proposto, *Oxyascaris,* no qual incluiu duas espécies novas para a ciência: *O. oxyascaris* (espécie tipo), parasita de ofídio, e *O. similis,* parasita de anfíbios. Travassos considerou a família *Oxyascaridae* intermediária entre *Oxyuroidea e Ascaroidea.*

Em 1924 Travassos incluiu-a nos *Ascaroidea* e, em 1925, referiu a segunda espécie, *O. similis,* em novos hospedadores, todos anfíbios.

Em 1926 Baylis & Daubney, em sua "Synopsis of the families and genera of Nematoda", aceitam *Oxyascaridae,* seguindo a opinião de Travassos, isto é, incluindo-a nos *Ascaroidea.*

Nesse mesmo ano Yorke & Maplestone não aceitam a família *Oxyascaridae,* incluindo seu único gênero entre os *Oxyuridae* de posição incerta.

Em 1951 Skrjabin, Shikhobalova & Mozgovoi mantêm *Oxyascaridae,* incluindo-a na superfamília *Atractoidea,* proposta nesse mesmo ano pelos dois primeiros.

Nenhum dos autores posteriores a Travassos (1925) adicionou qualquer fato novo ao conhecimento dos nematódeos pertencentes a essa família.

Recentemente apresentamos (Freitas, 1958) uma nota à Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro, na qual fizemos a correção do nome da família e propuzemos seu desdobramento em duas subfamílias: *Oxyascaridinae* e *Megalobatrachonematinae.* Na primeira incluímos dois gêneros: *Oxyascaris* Travassos, 1920 (espécie tipo: *O. oxyascaris* Travassos, 1920) e *Pteroxyascaris,* então proposto (espécie tipo: *P. similis* (Travassos, 1920)). Na segunda incluímos o gênero *Megalobatrachonema* Yamaguti, 1941, com a espécie *M. nipponicum* Yamaguti, 1941.

(*) Recebido para publicação a 25 de julho de 1958.

Nesta mesma nota retiramos do gênero de Yamaguti a espécie *Megalobatrachonema campanae* Chabaud & Golvan, 1957, propondo para ela um novo gênero, *Chabaudgolvania,* incluido em nova subfamília, *Chabaudgolvaniinae,* considerada entre os *Subulascarididae* Freitas & Dobbin Jr., 1957, cuja diagnose foi então parcialmente modificada.

MORFOLOGIA GERAL *

Corpo — O corpo é geralmente alongado, mais ou menos fusiforme, com a maior largura encontrada em sua porção média ou um pouco para trás.

Nas fêmeas adultas, o desenvolvimento dos órgãos genitais e a repleção dos úteros provoca um alongamento apreciável do corpo, geralmente mais pronunciado em sua metade posterior; esse alongamento origina grande diferença entre o comprimento dos indivíduos deste sexo e os do sexo oposto.

Apresenta o corpo coloração branca em vida e possui cutícula com estriação transversal geralmente fina e delicada e linhas longitudinais freqüentemente bem aparentes.

Pode apresentar ou não, em ambos os sexos, asas laterais estreitas, que se iniciam ao nível da extremidade anterior do esôfago e se estendem até a região posterior do corpo, terminando geralmente um pouco antes do nível da abertura anal.

Papilas — Existem papilas labiais em ambos os sexos. As papilas cervicais são inaparentes. Nos machos encontram-se papilas caudais, pré- e pós-anais, geralmente sub-laterais, e papilas situadas no bordo anterior da abertura anal.

Extremidade anterior — A extremidade anterior ou cefálica é atenuada em ambos os sexos; em seu ápice se situam três lábios arredondados, pouco desenvolvidos, sendo um dorsal e dois látero-ventrais. Cada lábio possui um par de pequenas papilas.

Extremidade posterior — A extremidade posterior ou caudal apresenta aspecto diferente nas fêmeas e nos machos.

Nas fêmeas ela é geralmente cilíndrica, digitiforme, terminando por um apendice afilado, cônico, de dimensões variáveis. Encontram-se na região anal fibras musculares radiais, bastante nítidas ou inaparentes.

Nos machos ela é curvada no sentido ventral, possuindo fibras musculares radiais bem desenvolvidas, não precedidas de pseudo-ventosa pré-anal. Nessa extremidade se situam as papilas caudais, pré- e pós-anais, geralmente sub-laterais e fracamente desenvolvidas, em número variável e, às vêzes, de observação bastante difícil. Termina ela por um apêndice delgado, de ápice cônico.

(*) Baseada sòmente nas espécies brasileiras que estudamos.

Aparêlho digestivo — O aparêlho digestivo compõe-se de: bôca, faringe, esôfago, intestino, reto (nas fêmeas) ou cloaca (nos machos) e ânus.

A bôca é simples e pequena; é o espaço compreendido entre os três lábios , não apresentando vestígio de quitinisação interna.

A faringe, continuação da bôca, é geralmente curta e sempre musculosa; freqüentemente é nìtidamente separada do esôfago.

O esôfago, que se segue à faringe, é dividido em três partes: *corpus*, ístmo e bulbo.

O *corpus*, primeira porção do esôfago, é musculoso em tôda sua extensão e não apresenta separação nítida entre *procorpus* e *metacorpus*.

O ístmo, segunda porção do esôfago, é musculoso e mais ou menos curto; separa-se geralmente do *corpus* com bastante nitidez.

O bulbo, terceira porção do esôfago, é mais ou menos arredondado, glandular, com aparelho valvular quitinisado pouco desenvolvido. Seu aspecto glandular separa-o do ístmo; entretanto pode apresentar, algumas vêzes, poucas fibras musculares anteriores, tornando-se então difícil estabelecer a zona de separação dessas duas porções. Separa-se ele do intestino por válvulas salientes, bem nítidas, que se apresentam como três projeções, de direção ântero-posterior, na luz intestinal.

O intestino é um tubo mais ou menos retilíneo, sujeito a variações em seu diâmetro.

O reto, encontrado nas fêmeas, é um órgão forte, cônico ou piriforme, representando a porção terminal do aparêlho digestivo. No ponto de reunião do intestino com o reto existem, geralmente, glândulas retais. Abre-se o reto, para o exterior, por um orifício, o ânus.

A cloaca, órgão formado pela reunião dos aparelhos digestivo e genital masculino, é geralmente curta e forte, apresentando a face interna, na região dorsal, quitinisada; abre-se para o exterior pelo ânus.

O ânus ou abertura anal é geralmente pequeno, com bordos salientes ou não; situa-se a alguma distância do ápice caudal, distância essa que é bastante variável nas fêmeas.

Anel nervoso — O anel nervoso, de observação geralmente fácil, situa-se no *corpus* do esôfago, ao nível de seu têrço anterior ou de seu têrço médio.

Poro excretor — O poro excretor, muito nítido, pode ser pré- ou pós-bulbar, conforme o maior ou menor comprimento do esôfago. A porção terminal do canal excretor é freqüentemente dilatada, sacciforme, de paredes fortes.

Aparêlho genital feminino — O aparêlho genital feminino é duplo (didelfia) e compõe-se de: vulva, ovejetor, úteros, ovidutos e ovários.

A vulva apresenta-se sob a forma de fenda transversal, com lábios fracamente salientes ou não. Situa-se na região média do corpo: nas

fêmeas jovens localiza-se na metade posterior e nas fêmeas adultas, com ovários bem desenvolvidos e úteros repletos de ovos e larvas, na metade anterior, geralmente um pouco antes da linha média transversal. Algumas vêzes pode ela estar situada mais anteriormente, devido ao alongamento mais pronunciado da parte posterior do corpo.

O ovejetor pode ser relativamente curto ou bastante longo; é comumente musculoso em sua porção distal e dirige-se, na maioria das vêzes, da abertura vulvar para diante, dobrando-se, logo depois, para trás. Liga-se aos dois úteros por condutos de paredes finas e delicadas, que representam vestíbulos não diferenciados.

Os dois úteros são opostos: um anterior e outro posterior (anfidelfia).

O útero anterior dirige-se do ovejetor para trás; dobra-se depois em U de convexidade posterior e toma direção anterior; liga-se ao oviduto correspondente, geralmente na região anterior à vulva. Quando o alongamento da porção posterior do corpo é muito pronunciado, a ligação útero-oviduto se faz na região posterior à abertura vulvar.

O oviduto anterior dirige-se para diante; é freqüentemente curto e apresenta uma dilatação globosa ou mais ou menos piriforme com função de espermateca.

O ovário anterior dirige-se do oviduto correspondente para diante, formando alças longitudinais variáveis e, a alguma distância do nível do fim do esôfago, dobra-se em U de convexidade anterior, dirigindo-se, então, para trás, terminando a uma distância bastante variável da abertura vulvar, na metade anterior do corpo. Pode êle não apresentar a curvatura em U e terminar na região logo anterior à vulva nas fêmeas com pronunciado alongamento da porção posterior do corpo.

O útero posterior, mais ou menos retilíneo, dirige-se para trás, podendo ou não atingir a região pós-anal do corpo. Dobra-se em U de convexidade posterior, tomando direção anterior e ligando-se, logo, ao oviduto correspondente.

O oviduto posterior, dirigido de trás para diante, é geralmente curto; apresenta uma dilatação globosa ou mais ou menos piriforme com função de espermateca.

O ovário posterior dirige-se do oviduto correspondente para diante, formando alças longitudinais variáveis; termina geralmente na região pré-vulvar do corpo, um pouco abaixo da terminação do ovário anterior. Algumas vêzes, quando o alongamento da porção posterior do corpo é pronunciado, termina êle na região pós-vulvar.

Nos úteros encontram-se ovos de casca fina, lisa e mole; são deformáveis e, geralmente, muito numerosos. Os ovos, nas porções iniciais dos úteros, contêm uma célula germinativa que, à proporção que êles percorrem a cavidade uterina, vai se desenvolvendo até a formação de uma larva (ovoviviparidade) que pode abandonar a casca, sendo, depois, eliminada (viviparidade).

Às vêzes observa-se a repleção de um dos úteros por ovos e larvas, permanecendo o útero oposto mais ou menos vasio.

O conjunto do aparêlho genital feminino ocupa geralmente mais da metade posterior do corpo nos espécimes adultos.

Aparêlho genital masculino — O aparêlho genital masculino, dirigido para diante, compõe-se de: canal ejaculador, canal deferente, testículo e órgãos copuladores.

O canal ejaculador, de paredes muito fortes, liga-se distalmente ao intestino, para constituir a cloaca, já estudada no aparêlho digestivo. Pela sua extremidade proximal liga-se, por uma região estreitada, com o canal deferente.

O canal deferente, de paredes finas e com dimensões variáveis, liga-se, pela extremidade proximal, ao testículo.

O testículo é um tubo geralmente largo, que diminui progressivamente de diâmetro à proporção que se dirige para diante. Apresenta uma curvatura em U, de convexidade anterior, a alguma distância do nível do fim do esôfago, terminando pouco depois.

Os órgãos copuladores são representados por dois espículos, geralmente pouco quitinisados; são freqüentemente curvados ventralmente e possuem base fracamente alargada e ponta atenuada.

O conjunto do aparêlho genital masculino ocupa geralmente a metade posterior do corpo.

SISTEMÁTICA

Nossos estudos levam-nos a adotar para êste interessante grupo de nematódeos a sistemática seguinte, por nós (Freitas, 1958) apresentada na sessão de 24 de julho de 1958 da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro.

Oxyascarididae (Travassos, 1920)

Oxyascaridae Travassos, 1920: 17
Oxyascaridae Travassos, 1924: 153
Oxyascaridae Travassos, 1925: 674
Oxyascaridae Baylis & Daubney, 1926: 20
Oxyascaridae Yorke & Maplestone, 1926: 214
Oxyascaridae Walton, 1933: 8
Oxyascaridae Walton, 1943: 14
Oxyascaridae Skrjabin & Shikhobalova, 1951
Oxyascaridae Skrjabin, Shikhobalova & Mozgovoi, 1951: 321
Oxyascaridae Freitas, 1958:35
Oxyascarididae Freitas, 1958: 35

Subuluroidea. Extremidade anterior sem dilatação cuticular cefálica. Bôca trilabiada (às vêzes com lábios não definidos). Vestíbulo ausente. Faringe presente. Esôfago com *corpus,* ístmo (às vêzes não diferenciado) e bulbo posterior glandular, com aparêlho valvular quitinoso pouco desenvolvido. Intestino simples, sem divertículo. Fêmeas ovoviví-

paras, didelfas, anfidelfas, com vulva no têrço médio do corpo e com cauda digitiforme, com apêndice afilado, cônico (às vêzes a cauda é atenuada progressivamente, não possuindo apêndice terminal). Machos desprovidos de asas caudais, sem (às vêzes com) pseudo-ventosa pré-anal, com espículos iguais e cauda atenuada, com (às vêzes sem) apêndice terminal cônico. Parasitos de *Reptilia* e *Amphibia*.

Subfamília tipo — *Oxyascaridinae* Freitas, 1958.

Outra subfamília — *Megalobatrachonematinae* Freitas, 1958.

Esta família, proposta por Travassos em 1920, com o nome de *Oxyascaridae*, foi por êle considerada intermediária entre *Oxyuroidea* e *Ascaroidea* e definida da seguinte maneira:

"Nematodeos de dimorfismo sexual acentuado, sendo as fêmeas de tamanho médio e os machos de tamanho pequeno; de estrutura muscular meriomiária; bôca com três lábios muito reduzidos; esôfago sem bulho, mas diferenciado posteriormente, de modo semelhante ao que se observa em muitos *Ascaroidea;* intestino terminando por volumoso reto piriforme e fortemente quitinisado; fêmeas com as alças do útero posterior prolongando-se até muito abaixo do ânus; machos com dois espículos iguais, pequenos, pouco quitinisados, sem asas caudais e com poucas papilas. *Habitat* — Intestino delgado e grosso de répteis e batráquios".

Em 1925 Travassos apresentou a diagnose seguinte:

"*Ascaroidea* de lábios reduzidos, não característicos; esôfago com pseudo-bulbo pouco acentuado; vulva mediana; útero indo posteriormente além do ânus; machos muito menores que as fêmeas; dois espículos sub-iguais".

Em 1926 ela é aceita por Baylis & Daubney e não o é por Yorke & Maplestone.

Em 1951 é considerada por Skrjabin, Shikhobalova & Mozgovoi na superfamília *Atractoidea*.

A diagnose acima, por nós apresentada em 1958, é feita de acôrdo com os novos conhecimentos adquiridos. Caracterisa-se *Oxyascarididae* pela estrutura peculiar do bulbo esofagiano, provido de aparêlho valvular reduzido, que é glandular, e não muscular, e, ainda, pela ovoviviparidade ou viviparidade das fêmeas.

Oxyascaridinae Freitas, 1958

Oxyascaridinae Freitas, 1958: 35, 36

Oxyascarididae. Bôca trilabiada. Ístmo bem diferenciado do *corpus* do esôfago. Fêmeas com ovários geralmente recurrentes, terminados no têrço médio do corpo; ovário anterior não atingindo a região esofagiana; cauda digitiforme, com apêndice terminal, alongado, cônico; reto muito forte. Machos desprovidos de pseudo-ventosa pré-anal. Parasitos de répteis e anfíbios.

Gênero tipo — *Oxyascaris* Travassos, 1920.

Outro gênero — *Pteroxyascaris* Freitas, 1958.

Oxyascaris Travassos, 1920

Oxyascaris Travassos, 1920: 17, 18
Oxyascaris Travassos, 1924: 153
Oxyascaris Baylis & Daubney, 1926: 20
Oxyascaris Yorke & Maplestone, 1926: 213-214
Oxyascaris Walton, 1933: 8
Oxyascaris Skrjabin, Shikhobalova & Mozgovoi, 1951: 321-323
Oxyascaris Skrjabin, 1954: 844
Oxyascaris Freitas, 1958: 36

Oxyascaridinae. Asas laterais ausentes. Machos com três pares de papilas pré- e outros três pós-anais. Gubernáculo ausente. Parasitos de répteis e anfíbios.

Espécie tipo — *O. oxyascaris* Travassos, 1920.

Outra espécie — *O. necopinus* sp. n.

Êste gênero, proposto por Travassos em 1920, não recebeu de seu autor uma diagnose individualizada.

Em 1926 foi considerado por Yorke & Maplestone entre os *Oxyuridae* de posição incerta, recebendo, então, uma diagnose baseada nos caracteres referidos por Travassos para a família.

Em 1958 apresentamos a diagnose acima em nota sôbre alguns nematódeos parasitos de répteis e anfíbios.

Oxyascaris oxyascaris Travassos, 1920

(Est. 1, figs. 1-5; est. 2, fig. 6; est. 3, figs. 7-10; est. 4, figs. 11-14)

Oxyascaris oxyascaris Travassos, 1920: 18-19, est. 2, figs. 1-3
Oxyascaris oxyascaris Baylis & Daubney, 1926: 20
Oxyascaris oxyascaris Yorke & Maplestone, 1926: 213, 214, fig. 145 A-C
Oxyascaris oxyascaris Skrjabin, Shikhobalova & Mozgovoi, 1951: 323, fig. 129 (1-3)
Oxyascaris oxyascaris Skrjabin, 1954: 613, 896
Oxyascaris oxyascaris Freitas, 1958: 36

Comprimento — Machos 4,96 a 6,06 mm; fêmeas 9,71 a 23,28 mm.

Largura — Machos 0,27 a 0,33 mm; fêmeas 0,25 a 0,60 mm.

Corpo alongado, de coloração branca em vida, com cutícula estriada delicadamente no sentido transversal e com linhas longitudinais mais ou menos aparentes. Asas laterais ausentes. Extremidade anterior atenuada. Bôca circundada por três lábios pequenos, um dorsal e dois látero-ventrais; cada lábio possui duas papilas. Faringe musculosa, com 0,043 a 0,061 mm de comprimento por 0,035 a 0,061 mm de largura nos machos e 0,052 a 0,140 mm por 0,052 a 0,113 mm nas fêmeas. Esôfago dividido em três partes: *corpus,* ístmo e bulbo; mede de comprimento total 0,60 a 0,83 mm nos machos e 0,70 a 1,41 mm nas fêmeas. *Corpus* musculoso, contínuo, sem divisão em duas regiões; mede 0,47 a 0,66 mm de comprimento por 0,066 a 0,100 mm de largura nos machos e 0,50 a 1,19 mm por 0,087 a 0,166 mm nas fêmeas. Ístmo curto, muscular. Bul-

QUADRO I

Oxyascaris oxyascaris Travassos, 1920 — Material tipo
(Medidas em milímetros)

Espécime	Holótipo	Alótipo	Parátipo	Parátipo
Col. Helm. I.O.C. n.º	1617	1617	23230 a	2323 e
Sexo	Macho	Fêmea	Fêmea	Fêmea
Comprimento	4,96	16,98	9,71	18,06
Largura	0,33	0,47	0,25	0,37
Faringe	0,052	0,070	0,052	0,087
Esôfago	0;68	1,24	0,90	1,24
Bulbo (com ístmo)	0,139 x 0,087	0,174 x 0,130	0,191 x 0,104	0,183 x 0,122
Anel nervoso	0,35	0,41	0,30	0,40
Poro excretor	0,48	0,78	0,43	0,76
Vulva	—	7,64	4,69	8,14
Ovos	—	0,105 x 0,050	—	0,088 x 0,063
Reto	—	0,25	0,18	0,26
Anus	0,28	0,81	0,51	0,76
Espículos	0,155	—	—	—
Apêndice caudal	0,029	0,017	0,025	?
Hospedador	*Dryadophis bifossatus* (Radd.)			
Proveniência	Manguinhos, Rio de Janeiro, D.F.			

QUADRO II

Oxyascaris oxyascaris Travassos, 1920
(Medidas em milímetros)

Col. Helm. I.O.C. n.º	23231 a	23231 b	23231 c	23231 e	23231 h	23231 i	23231 j	22231 k	23231 l
Sexo	Macho	Macho	Macho	Macho	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea
Comprimento	5,16	5,63	5,39	6,06	10,52	10,59	14,27	21,34	23,28
Largura	0,30	0,27	0,27	0,33	0,40	0,43	0,47	0,60	0,60
Faringe	0,043	0,052	0,052	0,061	0,061	0,052	0,078	0,140	0,087
Esôfago	0,61	0,63	0,60	0,83	0,85	0,70	1,16	1,18	1,41
Bulbo (com ístmo)	0,113 x 0,104	0,113 x 0,087	0,130 x 0,096	0,174 x 0,087	0,174 x 0,113	0,209 x 0,096	0,209 x 0,130	0,209 x 0,157	0,226 x 0,148
Anel nervoso	0,28	0,26	0,31	0,31	0,30	?	0,35	0,36	0,45
Poro excretor	0,40	0,33	0,38	0,53	0,41	?	0,56	0,51	0,68
Vulva	—	—	—	—	4,72	4,56	6,50	8,61	9,78
Ovos	—	—	—	—	0,092 x 0,067	0,084 x 0,059	0,101 x 0,067	0,092 x 0,059	0,101 x 0,067
Reto	—	—	—	—	?	0,21	0,25	0,33	0,33
Anus	0,20	0,23	0,31	0,28	?	0,28	0,36	1,06	0,95
Espículos	0,189	0,206	0,193	0,197	—	—	—	—	—
Apêndice caudal	0,029	0,029	0,034	0,029	0,034	0,042	0,034	0,029	0,034
Hospedador	*Dryadophis bifossatus* (Radd.)								
Proveniência	Manguinhos, Rio de Janeiro, D.F.								

bo mais ou menos arredondado, com válvulas quitinosas pouco desenvolvidas; é glandular e mede 0,087 a 0,130 mm de largura nos machos e 0,096 a 0,157 mm nas fêmeas. O conjunto ístmo-bulbo mede 0,113 a 0,174 mm de comprimento nos machos e 0,174 a 0,226 mm nas fêmeas. Válvulas esofagianas intra-intestinais nítidas. Intestino mais ou menos retilíneo. Anel nervoso distando 0,26 a 0,35 mm da extremidade anterior nos machos e 0,30 a 0,45 mm nas fêmeas. Poro excretor situado a 0,33 a 0,53 mm da extremidade cefálica nos machos e a 0,41 a 0,78 mm nas fêmeas. Papilas cervicais não evidenciadas.

QUADRO III

Oxyascaris oxyascaris Travassos, 1920
(Medidas em milímetros)

Col. Helm. I.O.C. n.º	23232 a	23232 b	23232 c	23233
Sexo	Macho	Macho	Fêmea	Fêmea
Comprimento	6,30	6,77	21,27	12,90
Largura	0,30	0,30	0,54	0,33
Faringe	0,052	0,061	0,096	0,087
Esôfago	0,65	0,76	1,14	1,04
Bulbo (com ístmo)	0,157 x 0,096	0,139 x 0,087	0,191 x 0,139	0,174 x 0,104
Anel nervoso	0,33	0,36	0,45	?
Poro excretor	0,38	0,50	0,65	0,65
Vulva	—	—	9,21	5,23
Ovos	—	—	0,032 x 0,059	0,109 x 0,076
Reto	—	—	0,33	0,25
Anus	0,26	0,28	0,50	0,63
Espículos	0,176	0,189	—	—
Apêndice caudal	?	0,017	?	0,029
Hospedador	*Leimadophis poecilogyrus* (Wied)			*Herpetodryas carinatus* (L.)
Proveniência	Manguinhos, Rio de Janeiro, D.F.			Angra dos Reis, Estado do Rio de Janeiro

Fêmeas ovovivíparas ou vivíparas, didelfas, anfidelfas. Vulva com lábios fracamente salientes, situada a 4,56 a 9,78 mm da extremidade anterior do corpo. Ovejetor dirigido para diante e logo depois curvado para trás; tem musculatura distal inaparente e mede 1,08 a 2,32 mm de comprimento. Útero anterior curvado para diante; ovário anterior curvado para trás, terminando antes do nível da abertura vulvar. Útero posterior dirigido para trás, alcançando ou não a região pós-anal do corpo;

curvado, depois, para diante. Ovário posterior dirigido para diante, terminando na região pré-vulvar do corpo. Ovos de casca fina, lisa e mole; são deformáveis e medem 0,084 a 0,105 mm de comprimento por 0,050 a 0,067 mm de largura. Larvas intra-uterinas numerosas. Ânus, com lábios não salientes, situado a 0,28 a 1,06 mm da ponta da cauda. Intestino terminado por um reto forte, que mede 0,18 a 0,33 mm de comprimento. Cauda digitiforme, terminada por um apêndice cônico, afilado, de 0,017 a 0,042 mm de comprimento.

Machos com espículos iguais, pouco quitinisados, com base fracamente alargada e ponta atenuada; medem 0,155 a 0,206 mm de comprimento. Gubernáculo ausente. Papilas caudais presentes, pequenas, em número de seis pares assim distribuídos: 3 pré-anais, sub-laterais, e 3 pós-anais. No bordo anterior do ânus existem duas pequenas papilas. Nas regiões anal e pré-anal do corpo encontram-se fibras musculares radiais bem desenvolvidas. Pseudo-ventosa pré-anal ausente. Tubo genital dirigido para diante. Canal ejaculador forte. Canal deferente de comprimento e diâmetro variáveis. Testículo mais ou menos longo, com curvatura em U de convexidade anterior. Ânus, com lábio anterior fracamente saliente, situado a 0,20 a 0,31 mm da ponta da cauda. Cauda com curvatura ventral, atenuada, terminada por um apêndice delgado, de ápice agudo, que mede 0,029 a 0,034 mm de comprimento.

Habitat — Intestinos delgado e grosso (raramente estômago) de *Dryadophis bifossatus* (Radd.) (hospedador tipo), *Leimadophis poecilogyrus* (Wied) e *Herpetodryas carinatus* (L.).

Distribuição geográfica — Manguinhos, Rio de Janeiro, D.F. (localidade tipo) e Angra dos Reis, Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Material estudado — Depositado na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz sob os números 1.617 (holótipo macho e alótipo fêmea), 23.230 a-c (parátipos), 23.231 a-n, 23.232 a-c, 23.233 e 23.234 a-b.

A redescrição acima é baseada em espécimes parasitos de *Dryadophis bifossatus* (Radd.) provenientes de Manguinhos, Rio de Janeiro, D.F.

Leimadophis poecilogyrus (Wied) e *Herpetodryas carinatus* (L.) são novos hospedadores para a espécie.

Nos Quadros I, II e III damos as principais medidas do material que estudamos; no último encontramos algumas medidas que ampliam àquelas referidas na redescrição feita acima.

Esta espécie foi descrita por Travassos, em 1920, da seguinte maneira:

"Comprimento: Fêmea 14 a 17 mm; macho 5 a 6 mm. Largura: Fêmea 0,3 mm; macho 0,2 mm. Fêmeas — Cutícula com estriação transversal delicadíssima; cabeça com três lábios apenas distintos; esôfago sem vestíbulo e com a última porção diferenciada num órgão piriforme alongado, sem válvulas e pouco musculoso; mede o esôfago cêrca de 1,5 mm de comprimento, sendo 0.38 mm para a porção posterior diferenciada em pseudo-bulbo e 0,25 mm de maior diâmetro; intestino mais ou menos cilíndrico, com a porção anterior ligeiramente dilatada e terminado por um reto amplo, piriforme, fortemente quitinisado e medindo

cêrca de 0.24 mm de comprimento por 0,12 mm de maior largura; ânus ligeiramente saliente, situado a cêrca de 0.92 mm da extremidade posterior; cauda digitiforme e terminada por um acúleo de cêrca de 0,034 mm; poro excretor no fim do segundo têrço do esôfago, a cêrca de 0,7 mm da extremidade anterior; anel nervoso a cêrca de 0,4 mm da extremidade; vulva situada na metade anterior do corpo, pouco acima do meio, transversal e ligeiramente saliente; ovejetor dirigindo-se para diante, numa extensão de cêrca de 0,2 mm, curvando-se então em U dirige-se para baixo em um longuíssimo vestíbulo de cêrca de 2 mm de comprimento, dividindo-se então em úteros divergentes; o útero posterior dirige-se para trás, ultrapassa o ânus, curva-se para diante e logo depois termina no oviduto; o ovário estende-se desde logo acima do ânus até mais ou menos a altura da vulva; o útero anterior começa abaixo da vulva e dirige-se para diante, terminando muito antes do começo do intestino; segue-se o oviduto enovelado que o liga ao ovário descendente colado desde o nível da terminação do útero até logo abaixo da vulva, quase em contato com a extremidade do ovário inferior; ovos embrionados nas primeiras porções dos úteros; medem 0,085 a 0,99 mm de comprimento por 0,056 a 0,071 mm de largura máxima. Em alguns exemplares fixados nota-se a presença de larvas livres no útero, parecendo ser isso acidental. Machos — Com esôfago medindo cêrca de 0,6 mm de comprimento sem o pseudo-bulbo, claviforme, com cêrca de 0,78 mm de largura máxima; pseudo-bulbo com cêrca de 0,120 por 0,078 mm; intestino dilatado anteriormente e separado do esôfago por células salientes que funcionam como válvulas de modo idêntico ao que se observa nos ascarídeos típicos; ânus a cêrca de 0,28 mm da extremidade posterior; poro excretor a cêrca de 0,46 mm da extremidade anterior; extremidade caudal apenas com 3 pares de papilas pós-anais aparentes e 3 papilas pré-anais; espículos iguais, pouco quitinisados, medem cêrca de 0,084 a 0,104 mm de comprimento; canal ejaculador claviforme com cêrca de 0,45 mm de comprimento; canal deferente com 0.87 mm de comprimento; testículo quase reto, com cêrca de 1,2 a 1,4 mm de comprimento. *Habitat* — Intestino delgado e grosso de *Drymobius bifossatus* Raddi."

Na descrição acima há alguns erros tipográficos: comprimento do pseudo-bulbo, maior diâmetro do esôfago e maior comprimento dos ovos, nas fêmeas; largura máxima do esôfago e comprimento dos espículos, nos machos.

Travassos representou a extremidade anterior, a cauda da fêmea e a do macho, tôdas em vista lateral. Não referiu a proveniência do material que estudou, o que fazemos presentemente.

Oxyascaris necopinus sp. n.

(Est. 5, figs. 15-19; est. 6, fig. 20; est. 7, figs. 21-23; est. 8, figs. 24-25; est. 9, figs. 26-29)

Oxyascaris sp. Travassos & Freitas, 1941: 631
Nematódeos [indet.] Travassos & Travassos, 1957: 15

Comprimento — Macho 6,36 mm; fêmeas 8,21 a 20,43 mm.

Largura — Macho 0,30 mm; fêmeas 0,25 a 0,60 mm.

Corpo alongado, de coloração branca em vida, com cutícula delicadamente estriada no sentido transversal e com linhas longitudinais mais ou menos aparentes. Asas laterais ausentes. Extremidade anterior atenuada. Bôca circundada por três lábios pequenos, um dorsal e dois látero-ventrais; cada lábio possui duas papilas. Faringe musculosa,

com 0,070 mm de comprimento por 0,078 mm de largura no macho e 0,043 a 0,078 mm por 0,035 a 0,070 mm nas fêmeas. Esôfago dividido em três partes: *corpus,* ístmo e bulbo; mede de comprimento total 0,49 mm no macho e 0,53 a 0,83 mm nas fêmeas. *Corpus* musculoso, contínuo, sem divisão em duas regiões; mede 0,38 mm de comprimento por 0,078 mm de largura no macho e 0,40 a 0,66 mm por 0,066 a 0,130 mm nas fêmeas. Ístmo curto, muscular. Bulbo mais ou menos arredondado, com válvulas quitinosas pouco desenvolvidas; é glandular e mede 0,096 mm de largura no macho e 0,087 a 0,113 mm nas fêmeas. O conjunto ístmo-bulbo mede 0,122 mm de comprimento no macho e 0,139 a 0,217 mm nas fêmeas. Válvulas esofagianas intra-intestinais nítidas. Intestino mais ou menos retilíneo. Anel nervoso distando 0,29 mm da extremidade anterior no macho e 0,26 a 0,38 mm nas fêmeas. Poro excretor situado a 0,58 mm da extremidade cefálica no macho e a 0,50 a 0,80 mm nas fêmeas. Papilas cervicais não evidenciadas.

Fêmeas ovovivíparas, didelfas, anfidelfas. Vulva, com lábios não salientes, situada a 3,99 a 9,38 mm da extremidade anterior do corpo. Ovejetor dirigido para diante e logo depois curvado para trás, com musculatura distal aparente; mede 0,75 a 1,41 mm de comprimento. Útero anterior curvado para diante; ovário anterior curvado para trás, terminando antes do nível da abertura vulvar. Útero posterior dirigido para trás, não atingindo a região pós-anal do corpo; curva-se em U, tomando a direção anterior; ovário posterior dirigido para diante, terminando na região pré-vulvar do corpo. Ovos de casca fina, lisa e mole; são deformáveis e medem 0,076 a 0,105 mm de comprimento por 0,050 a 0,063 mm de largura, contendo uma larva em seu interior. Ânus, com lábios não salientes, situado a 0,50 a 1,14 mm da ponta da cauda. Intestino terminado por um reto forte, que mede 0,13 a 0,30 mm de comprimento. Cauda digitiforme, terminada por um apêndice cônico, afilado, de 0,034 a 0,042 mm de comprimento.

Macho com espículos iguais, pouco quitinisados, com base fracamente alargada e ponta atenuada; medem 0,160 mm de comprimento. Gubernáculo ausente. Papilas caudais presentes, pequenas, em número de seis pares assim distribuídos: 3 pré-anais, sub-laterais, e 3 pós-anais. No bordo anterior do ânus existem duas pequenas papilas. Nas regiões anal e pré-anal do corpo observam-se fibras musculares radiais bem desenvolvidas. Pseudo-ventosa pré-anal ausente. Tubo genital dirigido para diante. Canal ejaculador forte. Canal deferente longo. Testículo relativamente curto, com curvatura em U de convexidade anterior. Ânus, com lábio anterior fracamente saliente, situado a 0,26 mm da ponta da cauda. Cauda com curvatura ventral, atenuada, terminada por um apêndice delgado, de ápice agudo, que mede 0,043 mm de comprimento.

Habitat — Intestino delgado de *Leptodactylus sibilatrix* (Wied) (hospedador tipo), *Leptodactylus ocellatus* (L.) e *Pleurodema diplolistris* (Peters).

QUADRO IV

Oxyascaris necopinus sp. n.
Espécimes parasitos de *Leptodactylus sibilatrix* (Wied) provenientes do Estado de Mato Grosso
(Medidas em milímetros)

Espécime	Holótipo	Parátipo	Parátipo	Alótipo	Parátipo	Parátipo	Parátipo	Parátipo	Parátipo
Col. Helm. I.O.C. n.º	22610 a	22610 b	23235 a	23235 b	23235 c	23235 e	23235 d	22611 a	22611 b
Sexo	Macho	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea
Comprimento	6,36	10,99	8,21	10,59	11,96	19,19	18,79	18,59	20,43
Largura	0,30	0,43	0,25	0,38	0,33	0,60	0,54	0,40	0,47
Faringe	0,070	0,067	0,043	0,052	0,052	0,061	0,052	0;070	0,078
Esôfago	0,49	0,80	0,53	0,58	0,56	0,85	0,83	0,75	0,83
Bulbo (com ístmo)	0,122 x 0,096	0,174 x 0,113	0,139 x 0,087	0,139 x 0,096	0,148 x 0,087	0,217 x 0,104	0,191 x 0,096	0,174 x 0,087	0,183 x 0,104
Anel nervoso	0,29	0,36	0,27	0,31	0,26	0,35	0,33	0,32	0,38
Poro excretor	0,58	0,58	0,50	0,58	0,51	0,71	0,80	0,63	0,78
Vulva	—	4,72	3,99	4,79	5,69	8,94	9,11	8,41	9,38
Ovos	—	0,076 x 0,050	—	0,092 x 0,059	0,092 x 0,059	0,105 x 0,063	0,105 x 0,059	0,092 x 0,055	0,092 x 0,050
Reto	—	0,26	0,13	0,18	0,18	0,21	0,17	0,23	0,30
Anus	0,26	0,90	0,50	0,64	0,74	0,97	0,90	1,07	1,14
Espículos	0,160	—	—	—	—	—	—	—	—
Apêndice caudal	0,043	0,038	0,042	0,038	0,034	0,046	0,034	0,043	0,042
Localidade	Urucum							Km 1 299 E.F.N.O.B.	

QUADRO V

Oxyascaris necopinus sp. n.
Espécimes parasitos de *Leptodactylus ocellatus* (L.) e *Pleurodema diplolistris* (Peters)
(Medidas em milímetros)

Col. Helm. I.O.C. n.º	23237 a	23237 b	23238 a	23238 b	23239 a	23239 b
Sexo	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Fêmea	Fêmea
Comprimento	7,34	21,20	5,33	19,70	21,04	20,97
Largura	0,33	0,67	0,20	0,50	0,40	0,43
Faringe	0,078	0,078	0,061	0,096	0,096	0,104
Esôfago	0,66	1,18	0,38	0,78	0,86	0,88
Bulbo (com ístmo)	0,122 x 0,104	0,174 x 0,122	0,209 x 0,052	0,165 x 0,087	0,191 x 0,104	0,174 x 0,104
Anel nervoso	0,30	0,46	0,24	0,40	0,45	0,46
Poro excretor	0,65	1,03	0,48	0,68	0,80	0,90
Vulva	—	9,48	—	8,81	10,28	10,18
Ovos	—	0,092 x 0,067	—	0,092 x 0,059	0,109 x 0,059	0,092 x 0,050
Reto	—	0,27	—	0,23	0,27	0,25
Anus	0,30	1,44	0,28	1,34	1,10	1,07
Espículos	0,126	—	0,134	—	—	—
Apêndice caudal	0,035	?	0,029	0,038	0,050	0,050
Hospedador	*Leptodactylus ocellatus* (L.)		*Pleurodema diplolistris* (Peters)			
Proveniência	Ilha Sêca, São Paulo		Salvador, Bahia			

Proveniência — Urucum, Estado de Mato Grosso (localidade tipo), Ilha Sêca, Estado de S. Paulo e Salvador, Estado da Bahia, Brasil.

Material estudado — Depositado na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz sob os números 22.610 a (holótipo macho), 22.610 b (parátipo), 22.611 a-b (parátipos), 23.235 a (parátipo), 23.235 b (alótipo fêmea), 23.235 c-e (parátipos), 23.236 (parátipo), 23.237 a-b, 23.238 a-b e 23.239 a-b.

A descrição acima é baseada em espécimes parasitos de *Leptodactylus sibilatrix* (Wied) provenientes de Urucum, Estado de Mato Grosso, cujas principais medidas constam do Quadro IV.

Os exemplares provenientes dos dois outros hospedadores têm suas principais medidas referidas no Quadro V; ampliam elas as dimensões da espécie.

Discussão — O necopinus sp. n. distingue-se de *O. oxyascaris* Travassos, 1920, com facilidade, pelo menor comprimento do esôfago, o que acarreta a impressão de ser o poro excretor situado mais posteriormente.

Pteroxyascaris Freitas, 1958

Pteroxyscaris Freitas, 1958: 36

Oxyascaridinae. Asas laterais presentes em ambos os sexos. Machos com seis pares de papilas pré- e sete pares de papilas pós-anais. Gubernáculo ausente. Parasitos de anfíbios.

Espécie tipo — *P. similis* (Travassos, 1920) Freitas, 1958.

Outra espécie — *P. caudacutus* sp. n.

Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958

(Est. 10, figs. 30-31; est. 11, figs. 32-34; est. 12, figs. 35-36; est. 13, figs. 37-40; est. 14, figs. 41-45; est. 15, figs. 46-49; est. 16, figs. 50-52; est. 17, figs. 53-55)

Oxyascaris similis Travassos, 1920: 19-20, ests. 3-6
Oxyascaris similis Travassos, 1925: 674
Oxyascaris similis Yorke & Maplestone, 1926: 214
Oxyascaris similis Walton, 1933: 8
Oxyascaris similis Walton, 1943: 14
Nematódeos [indet.] Travassos, 1944: 127
Oxyascaris similis Walton, 1945 a: 24
Oxyascaris similis Walton, 1945 b: 12
Oxyascaris similis Walton, 1945 c: 12
Oxyascaris similis Walton, 1945 d: 24
Oxyascaris similis Walton, 1945 e: 114
Oxyascaris similis Walton, 1947 a: 205, 209
Oxyascaris similis Walton, 1947 b: 1, 6
Oxyascaris similis Skrjabin, Shikhobalova & Mozgovoi, 1951: 323
Oxyascaris similis Skrjabin, 1954: 586, 587, 589, 590, 908
Pteroxyascaris similis Freitas, 1958:36

Comprimento — Machos 4,69 a 7,40 mm; fêmeas 6,87 a 32,53 mm.

Largura — Machos 0,23 a 0,43 mm; fêmeas 0,23 a 0,74 mm.

Corpo alongado, de coloração branca em vida, com cutícula estriada transversalmente e com linhas longitudinais delicadas. Asas laterais presentes, estendendo-se da região esofagiana até a região pré-anal do corpo. Extremidade anterior atenuada. Bôca circundada por três lábios pequenos, um dorsal e dois látero-ventrais; cada lábio possui duas papilas. Faringe musculosa, com 0,052 a 0,078 mm de comprimento por 0,043 a 0,052 mm de largura nos machos e 0,061 a 0,113 mm por 0,052 a 0,104 mm nas fêmeas. Esôfago dividido em três partes: *corpus*, ístmo e bulbo; mede de comprimento total 0,56 a 0,86 mm nos machos e 0,66 a 2,19 mm nas fêmeas. *Corpus* musculoso, contínuo, sem divisão em duas regiões; mede 0,46 a 0,71 mm de comprimento por 0,066 a 0,104 mm de largura nos machos e 0,53 a 1,89 mm por 0,083 a 0,166 mm nas fêmeas. Ístmo curto, muscular. Bulbo mais ou menos arredondado, com válvulas quitinosas pouco desenvolvidas; é glandular e mede 0,070 a 0,113 mm de largura nos machos e 0,087 a 0,191 mm nas fêmeas. O conjunto ístmo-bulbo mede 0,104 a 0,174 mm de comprimento nos machos e 0,174 a 0,313 mm nas fêmeas. Válvulas esofagianas intra-intestinais nítidas. Intestino mais ou menos retilíneo. Anel nervoso distando 0,27 a 0,46 mm da extremidade anterior nos machos e 0,31 a 0,70 mm nas fêmeas. Poro excretor situado a 0,33 a 0,63 mm de extremidade cefálica nos machos e a 0,50 a 1,34 mm nas fêmeas. Papilas cervicais não evidenciadas.

Fêmeas ovovivíparas ou vivíparas, didelfas, anfidelfas. Vulva, com lábios não salientes, situada a 3,52 a 14,07 mm da extremidade anterior do corpo. Ovejetor dirigido para diante e logo depois curvado para trás, com musculatura distal aparente nos exemplares adultos; mede 1,19 a 2,16 mm de comprimento. Útero anterior curvado para diante; ovário anterior curvado para trás, terminando antes do nível da abertura vulvar. Útero posterior dirigido para trás, alcançando ou não a região pós-anal do corpo; curva-se em U, tomando a direção anterior; ovário posterior dirigido para diante, terminando na região pré-vulvar do corpo. Ovos de casca fina, lisa e mole; são deformáveis e medem 0,084 a 0,109 mm de comprimento por 0,042 a 0,067 mm de largura. Larvas intra-uterinas numerosas. Ânus, com lábios não salientes, situado a 0,50 a 1,94 mm da ponta da cauda. Intestino terminado por um reto forte que mede 0,20 a 0,36 mm de comprimento. Cauda digitiforme, terminada por um apêndice cônico, de 0,025 a 0,046 mm de comprimento.

Machos com espículos iguais, pouco quitinisados, com base fracamente alargada e ponta atenuada; medem 0,160 a 0,193 mm de comprimento. Gubernáculo ausente. Papilas caudais presentes, pequenas, em número de treze pares assim distribuídos: 6 pré-anais, sub-laterais, e 7 pós-anais. No bordo anterior do ânus existe uma pequena papila. Nas regiões anal e pré-anal do corpo observam-se fibras musculares radiais bem desenvolvidas. Pseudo-ventosa pré-anal ausente. Tubo genital dirigido para diante. Canal ejaculador forte. Canal deferente de di-

QUADRO VI

Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958 — Material tipo
(Medidas em milímetros)

Espécime	Lectoholótipo	Lectoalótipo
Col. Helm. I.O.C. n.º	1663	1664
Sexo	Macho	Fêmea
Comprimento	7,40	26,83
Largura	0,43	0,65
Faringe	?	0,096
Esôfago	0,86	1,96
Bulbo (com ístmo)	0,157 x 0,104	0,244 x 0,157
Anel nervoso	?	0,58
Poro excretor	0,60	?
Vulva	—	11,89
Ovos	—	0,109 x 0,067
Reto	—	0,36
Anus	0,26	1,37
Espículos	0,185	—
Apêndice caudal	?	0,042
Hospedador	*Leptodactylus ocellatus* (L.)	
Proveniencia	Manguinhos, Rio de Janeiro, D.F.	

QUQADRO VII

Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958
Espécimes parasitos de *Leptodactylus ocellatus* (L.) provenientes do Rio de Janeiro, Distrito Federal
(Medidas em milímetros)

Col. Helm. I.O.C. n.º	23255 a	23255 b	23256	23240	23247 b	23257 b	23253 d	23253 g
Sexo	Macho	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea
Comprimento	5,36	12,13	23,15	22,08	16,55	21,67	21,07	24,55
Largura	0,27	0,33	0,47	0,55	0,40	0,49	0,43	0,47
Faringe	0,061	0,078	0,096	0,087	0,087	0,070	0,087	0,096
Esôfago	0,83	1,13	1,59	1,48	1,41	1,64	1,33	1,65
Bulbo (com ístmo)	0,157 x 0,096	0,191 x 0,122	0,209 x 0,130	0,209 x 0,157	0,174 x 0,087	0,209 x 0,130	0,209 x 0,130	0,261 x 0,104
Anel nervoso	0,33	0,38	0,50	0,43	0,45	0,50	0,51	0,50
Poro excretor	0,63	0,68	0,96	0,83	0,78	1,01	0,88	1,00
Vulva	—	5,36	9,31	10,82	7,44	9,88	9,55	10,99
Ovos	—	0,092 x 0,055	0,088 x 0,055	0,109 x 0,059	0,101 x 0,059	0,101 x 0,055	0,088 x 0,046	0,084 x 0,042
Reto	—	0,21	0,27	0,27	0,23	0,30	0,27	0,30
Anus	0,27	0,63	0,87	0,97	0,97	1,04	1,14	1,07
Espículos	0,172	—	—	—	—	—	—	—
Apêndice caudal	0,029	0,038	0,034	?	0,042	0,038	0,034	0,038
Localidade	Manguinhos						Vicente de Carvalho	

QUADRO VIII

Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958
Espécimes parasitos de *Leptodactylus ocellatus* (L.) provenientes de Angra dos Reis, Estado do Rio de Janeiro
(Medidas em milímetros)

Col. Helm. I.O.C. n.º	23241 c	23244 a	23244 b	23245 a	2 245 b	23245 c	23245 d	23244 d	23243 a	23243 b
Sexo	Macho	Macho	Macho	Macho	Macho	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea
Comprimento	6,46	7,34	4,79	5,63	5,49	13,50	30,92	23,52	16,75	32,53
Largura	0,37	0,28	0,25	0,25	0,27	0,30	0,57	0,43	0,38	0,74
Faringe	0,061	0,078	0,052	0,061	0,052	0,070	0,096	0,087	0,087	0,113
Esôfago	0,76	0,73	0,56	0,75	0,71	1,10	1,99	1,51	1,29	2,19
Bulbo (com ístmo)	0,174 x 0,113	0,139 x 0,096	0,104 x 0,070	0,122 x 0,083	0,139 x 0,083	0,191 x 0,113	0,261 x 0,148	0,209 x 0,157	0,209 x 0,122	0,313 x 0,191
Anel nervoso	0,28	0,46	0,28	0,30	0,35	0,43	0,53	0,45	0,41	0,70
Poro excretor	0,50	0,60	0,40	0,55	0,50	0,68	1,34	0,81	0,93	1,29
Vulva	—	—	—	—	—	6,23	14,07	10,52	7,67	14,06
Ovos	—	—	—	—	—	0,084 x 0,046	0,101 x 0,050	0,101 x 0,067	0,084 x 0,046	0,109 x 0,067
Reto	—	—	—	—	—	0,20	0,36	0,30	0,21	0,33
Anus	0,27	0,27	0,22	0,22	0,27	0,77	1,94	1,10	0,84	1,84
Espículos	0,193	0,176	0,160	0,168	0,160	—	—	—	—	—
Apêndice caudal	0,029	0,025	0,029	0,029	0,025	0,038	0,025	?	0,025	0,046

QUADRO IX

Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958
Espécimes parasitos de *Leptodactylus ocellatus* (L.) provenientes dos Estados de Minas Gerais, Paraná e Espírito Santo
(Medidas em milímetros)

Col. Helm. I.O.C. n.º	23249 b	23249 a	23249 c	23252 a	23252 b	23251 b
Sexo	Macho	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea
Comprimento	4,69	26,03	6,87	17,96	17,15	20,10
Largura	0,23	0,60	0,23	0,33	0,33	0,54
Faringe	0,070	0,096	0,061	0,087	0,096	0,113
Esôfago	0,58	1,49	0,66	1,29	1,24	1,21
Bulbo (com ístmo)	0,122 x 0,070	0,313 x 0,191	0,139 x 0,087	0,244 x 0,122	0,191 x 0,157	0,191 x 0,139
Anel nervoso	0,27	0,55	0,31	0,48	0,46	0,45
Poro excretor	0,33	0,91	0,50	0,88	0,88	0,83
Vulva	—	11,05	3,52	8,01	8,21	9,38
Ovos	—	0,101 x 0,067	—	0,105 x 0,067	0,084 x 0,050	0,092 x 0,059
Reto	—	0,35	0,20	0,30	0,27	0,35
Anus	0,18	0,97	0,50	1,24	1,00	1,21
Espículos	0,164	—	—	—	—	—
Apêndice caudal	0,042	?	0,042	0,042	0,038	?
Localidade	Belo Horizonte, Minas Gerais			Curitiba, Paraná		Santa Teresa, Espírito Santo

QUADRO X

Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958
Espécimes parasitos de *Leptodactylus pentadactylus* (Laur.), *Bufo marinus* L. e *Bufo* sp.
(Medidas em milímetros)

Col. Helm. I.O,C. n.º	23258 a	23258 c	23270 a	23261 b	23261 a	23260 b	28260 e	23260 f	23260 c	23260 d	23259 a
Sexo	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Macho	Macho	Macho	Macho	Fêmea	Fêmea	Fêmea
Comprimento	18,36	16,18	26,46	19,76	7,80	9,88	8,74	8,37	27,84	28,31	23,18
Largura	0,47	0,40	0,64	0,40	0,37	0,30	0,32	0,30	0,55	0,67	0,74
Faringe	0,078	0,070	0,078	0,113	0,052	0,070	0,070	0,078	0,113	0,113	0,104
Esôfago	1,21	1,11	1,84	?	0,86	0,96	0,98	1,00	1,91	1,91	1,59
Bulbo (com ístmo)	0,191 x 0,122	0,191 x 0,139	0,183 x 0,165	?	0,139 x 0,096	0,174 x 0,122	0,174 x 0,104	0,174 x 0,113	0,299 x 0,157	0,244 x 0,174	0,171 x 0,104
Anel nervoso	0,41	0,43	0,50	?	0,35	0,41	0,46	0,38	0,64	0,57	0,46
Poro excretor	0,81	0,66	0,70	?	0,66	0,75	0,75	0,58	0,97	1,04	0,90
Vulva	7,67	6,60	12,26	9,04	—	—	—	—	13,20	12,39	11,12
Ovos	0,109 x 0,050	—	0,101 x 0,059	0,109 x 0,076	—	—	—	—	0,088 x 0,050	0,101 x 0,059	0,088 x 0,055
Reto	0,27	0,33	0,35	0,28	—	—	—	—	0,36	0,31	0,28
Anus	1,01	0,77	0,84	0,74	0,28	0,28	0,27	0,27	1,14	1,27	0,80
Espículos	—	—	—	—	0,168	0,197	0,164	0,172	—	—	—
Apêndice caudal	0,021	0,025	0,046	?	0,021	0,034	0,042	0,038	0,042	0,042	0,038
Hospedador	*Leptodactylus pentadactylus* (Laur.)		*Bufo marinus* L.	*Bufo* sp.		*Bufo* sp.					
Proveniência	Belo Horizonte, Minas Gerais		Angra dos Reis Estado do Rio de Janeiro			Manguinhos, Rio de Janeiro, D.F.					

QUADRO XI

Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958
Espécimes parasitos de *Bufo crucifer* Wied
(Medidas em milímetros)

Col. Helm. I.O.C. n.º	23265 b	23265 c	23266 b	23268 a	23265 a	23266 a	23267 a	23267 c	23269 a	23262 c	23262 a	23262 b
Sexo	Macho	Macho	Macho	Macho	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Macho	Fêmea	Fêmea
Comprimento	8,61	8,98	7,40	8,14	22,21	19,63	26,50	29,91	23,15	8,21	22,28	21,17
Largura	0,35	0,37	0,28	0,27	0,54	0,47	0,58	0,60	0,43	0,40	0,55	0,57
Faringe	0,061	0,061	0,061	0,061	0,087	0,087	0,122	0,113	0,096	0,061	0,087	0,078
Esôfago	0,93	0,91	0,98	0,90	1,41	1,46	1,76	1,76	1,64	0,78	1,43	1,44
Bulbo (com ístmo)	0,174 x 0,113	0,174 x 0,104	0,118 x 0,096	0,157 x 0,087	0,209 x 0,157	0,191 x 0,130	0,261 x 0,157	0,226 x 0,157	0,226 x 0,139	0,139 x 0,096	0,209 x 0,157	0,217 x 0,139
Anel nervoso	0,36	0,33	0,23	0,53	0,41	0,43	0,61	0,45	0,55	0,37	0,46	0,40
Poro excretor	0,65	0,56	0,45	0,65	0,61	0,90	1,04	0,97	0,86	0,64	0,66	0,73
Vulva	—	—	—	—	8,38	9,58	11,82	13,63	11,19	—	9,38	8,19
Ovos	—	—	—	—	0,092 x 0,050	0,101 x 0,063	0,101 x 0,059	0,092 x 0,050	0,101 x 0,050	—	0,092 x 0,059	0,092 x 0,059
Reto	—	—	—	—	0,31	0,28	0,30	0,33	0,27	—	0,33	0,28
Anus	0,33	0,31	0,27	0,30	1,04	0,50	1,24	1,21	0,94	0,33	1,27	1,37
Espículos	0,189	0,181	0,160	0,176	—	—	—	—	—	0,168	—	—
Apêndice caudal	0,029	0,034	0,034	0,044	0,038	0,042	0,029	0,042	0,042	0,034	0,042	0,042
Proveniência	Mangainhos, Rio de Janeiro, D.F.									Angra dos Reis, Estado do Rio de Janeiro		

mensões variáveis. Testículo mais ou menos longo, com curvatura em U de convexidade anterior. Ânus, com lábio anterior um pouco saliente, situado a 0,18 a 0,27 mm da ponta da cauda. Cauda com curvatura ventral, atenuada, terminada por um apêndice delgado, de ápice agudo, que mede 0,025 a 0,042 mm de comprimento.

Larvas do 1.º estádio com cutícula lisa, com extremidade anterior atenuada e posterior afilada, de ápice agudo. Medem 0,25 a 0,29 mm de comprimento por 0,008 a 0,010 mm de largura. Bôca com três lábios indistintos. Esôfago com 0,60 mm de comprimento.

Larvas do 3.º estádio (tipo feminino) com cutícula finamente estriada no sentido transversal e com extremidade anterior arredondada e posterior afilada, de ápice agudo. Medem 2,21 a 3,24 mm de comprimento por 0,11 a 0,21 mm de largura. Bôca com três lábios pouco desenvolvidos. Faringe com 0,052 mm de comprimento por 0,035 a 0,052 mm de largura. Esôfago com 0,40 a 0,41 mm de comprimento, sendo 0,09 a 0,10 mm para o conjunto ístmo-bulbo. Bulbo mais ou menos arredondado, com 0,057 a 0,078 mm de largura. Anel nervoso distando 0,16 a 0,19 mm da extremidade anterior. Poro excretor situado a 0,28 a 0,30 mm da extremidade cefálica. Região vulvar distando 1,24 mm da extremidade anterior do corpo. Intestino retilíneo, terminado por um reto que mede 0,06 a 0,07 mm de comprimento. Ânus, com lábios não salientes, situado a 0,15 a 0,23 mm da ponta da cauda. Apêndice caudal afilado, de ápice agudo, com 0,021 a 0,025 mm de comprimento.

Habitat — Intestinos delgado e grosso de *Leptodactylus ocellatus* (L.) (hospedador tipo), *Leptodactylus pentadactylus* (Laur.), *Bufo* sp., *Bufo marinus* L., *Bufo crucifer* Wied e *Hyla faber* Wied.

Distribuição geográfica — Manguinhos (localidade tipo) e Vicente de Carvalho, Rio de Janeiro, D.F.; Angra dos Reis, Estado do Rio de Janeiro; Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais; Curitiba, Estado do Paraná e Santa Teresa, Estado do Espírito Santo, Brasil.

Material estudado — Depositado na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz sob os números 1.663 (lectoholótipo macho), 1.664 (lectoalótipo fêmea), 23.240, 23.241 a-d, 23.242 a-b, 23.243 a-b, 23.244 a-d, 23.245 a-d, 23.246 a-b, 23.247 a-c, 23.248, 23.249 a-d, 23.250 a-g, 23.251 a-b, 23.252 a-b, 23.253 a-h, 23.254, 23.255 a-d, 23.256, 23.257, 23.258 a-c, 23.259 a-b, 23.260 a-g, 23.261 a-b, 23.262 a-c, 23.263 a-b, 23.264 a-b, 23.265 a-d, 23.266 a-b, 23.267 a-c, 23.268 a-c, 23.269 a-c, 23.270 a-b, 23.271 a-c, 23.272 e 23.273.

A redescrição acima é baseada em espécimes parasitos de *Leptodactylus ocellatus* (L.), com exceção da descrição da larva do 1.º estádio, que é de exemplares colhidos em *Hyla faber* Wied.

O hospedador *Leptodactylus pentadactylus* (Laur.) é referido agora pela primeira vêz.

Nos Quadros VI a XII damos as principais medidas do material que estudamos.

QUADRO XII

Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958
Espécimes parasitos de *Hyla faber* Wied
(Medidas em milímetros)

Csl. Helm. I.O.C. n.º	23273	23272	23271 a	23271 b
Sexo	Macho	Fêmea	Fêmea	Fêmea
Comprimento	6,60	17,25	18,36	22,34
Largura	0,28	0,33	0,33	0,45
Faringe	0,052	0,078	0,087	0,087
Esôfago	0,62	1,03	1,26	1,43
Bulbo (com ístmo)	0,139 x 0,074	0,191 x 0,113	0,209 x 0,096	0,174 x 0,104
Anel nervoso	0,31	0,34	0,56	0,49
Poro excretor	0,39	0,50	0,86	0,86
Vulva	—	7,60	7,74	10,55
Ovos	—	0,084 x 0,063	0,101 x 0,067	0,092 x 0,055
Reto	—	0,25	0,25	0,27
Anus	0,28	0,60	0,51	0,48
Espículos	0,193	—	—	—
Apêndice caudal	?	0,042	0,042	0,042
Proveniência	Belo Horizonte, Minas Gerais		Manguinhos, Rio de Janeiro, D.F	

Esta espécie foi descrita por Travassos, em 1920, da seguinte maneira:

"Comprimento: Fêmea 22 a 26 mm; macho 6,5 a 10 mm. Largura: Fêmea 0,43 a 0,52 mm; macho 0,28 a 0,35 mm. Fêmeas com a cutícula finamente estriada; bôca com três lábios muito pequenos e providos, cada um, de duas papilas; esôfago claviforme, com pseudo-bulbo piriforme; mede cêrca de 1,7 a 1,8 mm de comprimento, sendo 0,22 a 0,26 mm para o pseudo-bulbo, e 0,15 a 0,17 mm de maior largura; intestino pouco dilatado anteriormente e terminado por um reto quitinoso de cêrca de 0,26 mm de comprimento; ânus saliente, situado a cêrca de 0,84 a 1 mm da extremidade posterior; poro excretor a 0,87 mm da extremidade cefálica; vulva situada na metade anterior do corpo, transversal; ovejetor a princípio de direção anterior (cêrca de 0,26 mm) e depois de direção posterior se prolongando em um longuíssimo vestíbulo em Y, cujos ramos pares são quase nulos (cêrca de 5 mm); útero posterior dirigindo-se para trás até abaixo do ânus, onde curva-se e termina em um oviduto enovelado que comunica com o ovário ascendente; ovário começando logo acima do ânus e terminando mais ou menos na altura da vulva; útero anterior dirigindo-se para diante até pouco acima da vulva onde termina no oviduto enovelado e de direção posterior; ovário de direção anterior, começa logo acima da vulva e ultrapassa o útero, curvando-se antes para trás ou tornando-se muito sinuoso; ovos com embrião completamente desenvolvido, medem cêrca de 0,098 mm de comprimento por 0,078 mm de maior largura. Machos com cutícula sem estriação; lábios muito pequenos e providos de duas papilas cada um; esôfago medindo cêrca de 0,75 mm a 1,13 mm de comprimento, sendo 0,15 a 0,19 mm para o pseudo-bulbo e 0,70 a 0,96 mm de maior largura; anel nervoso a 0,35 mm da extremidade anterior; poro excretor a 0,57 a 0,66 mm

da extremidade; asas laterais com 0,017 mm de largura, começando a cêrca de 0,24 mm da extremidade anterior e prolongando-se até abaixo do meio do corpo do parasito; extremidade cônica e aguda, tendo o ânus a cêrca de 0,33 a 0,38 mm da extremidade; papilas numerosas, mas difíceis de observar, dependendo da boa posição e bom clareamento do material; existem 6 pares pré-anais, geralmente bem visíveis, além de uma papila ímpar logo acima do ânus e 7 pares pós-anais dispostos em duas séries, uma ventral e outra ventro-lateral, sendo um grupo de três pares perto da extremidade e dois pares ventrais e dois laterais entre a extremidade e o ânus; espículos pequenos, iguais, delgados e pouco quitinisados, medem cêrca de 0,162 a 0,168 mm de comprimento por 0,007 a 0,008 mm de maior largura; testículo tendo início logo acima do meio do corpo, é sinuoso e comunica com um canal deferente claviforme e largo que funciona como receptáculo seminal; o canal ejaculador é cilíndrico e muito longo, mede cêrca de 1,2 a 1,3 mm de comprimento. *Habitat* — Intestino delgado e grosso de *Leptodactylus ocellatus* e de *Bufo* sp? (sapo)."

Na descrição há um êrro tipográfico na maior largura do esôfago. Travassos representou a extremidade anterior, a cauda da fêmea, a cauda do macho, de perfil e em vista ventral, e a musculatura do corpo. Não referiu a proveniência do material que estudou, o que fazemos agora.

Em 1925 Travassos referiu-a, sem maiores detalhes, em *Leptodactylus ocellatus* (L.), *Bufo cruciffer* Wied, *Bufo marinus* L. e *Hyla faber* Wied.

Pteroxyascaris caudacutus sp. n.

(Est. 18, figs. 56-62; est. 19, figs. 63-65; est. 20, figs. 66-69)

Oxyascaris sp. Travassos & Freitas, 1941: 631

Comprimento — Machos 2,78 a 3,62 mm; fêmeas 5,63 a 16,21 mm.

Largura — Machos 0,17 a 0,20 mm; fêmeas 0,13 a 0,33 mm.

Corpo alongado, de coloração branca em vida, com cutícula estriada transversalmente e com linhas longitudinais delicadas. Asas laterais presentes, estendendo-se da região esofagiana até a região pré-anal do corpo. Extremidade anterior atenuada. Bôca circundada por três lábios pequenos, um dorsal e dois látero-ventrais; cada lábio possui duas papilas. Faringe musculosa, com 0,035 mm de comprimento por 0,026 a 0,035 mm de largura nos machos e 0,043 a 0,052 mm por 0,031 a 0,043 mm nas fêmeas. Esôfago dividido em três partes: *corpus*, ístmo e bulbo; mede de comprimento total 0,36 a 0,44 mm nos machos e 0,43 a 0,63 mm nas fêmeas. *Corpus* musculoso, contínuo, sem divisão em duas regiões; mede 0,23 a 0,35 mm de comprimento por 0,035 a 0,043 mm de largura nos machos e 0,27 a 0,47 mm por 0,043 a 0,061 mm nas fêmeas. Ístmo curto, muscular. Bulbo mais ou menos arredondado, com válvulas quitinosas pouco desenvolvidas; é glandular e mede 0,061 a 0,070 mm de largura nos machos e 0,070 a 0,113 mm nas fêmeas. O conjunto ístmo-bulbo mede 0,096 a 0,122 mm de comprimento nos machos e 0,130 a 0,157 mm nas fêmeas. Válvulas esofagianas intra-intestinais nítidas. Intestino mais ou menos retilíneo. Anel nervoso distando 0,18 a 0,24 mm da extremidade anterior nos machos e 0,27 a 0,28 mm nas fêmeas. Poro excretor

situado a 0,21 a 0,30 mm da extremidade cefálica nos machos e a 0,31 a 0,51 mm nas fêmeas. Papilas cervicais não evidenciadas.

Fêmeas ovovivíparas ou vivíparas, didelfas, anfidelfas. Vulva, com lábios fracamente salientes, situada a 2,01 a 4,19 mm da extremidade anterior do corpo. Ovejetor dirigido transversalmente para a porção média da cavidade do corpo e depois curvado para trás; possui musculatura distal aparente e mede 0,43 a 0,56 mm de comprimento. Útero anterior dirigido para trás e depois curvado para diante; ovário anterior dirigido para diante, pouco sinuoso, terminando logo adiante da abertura vulvar. Útero posterior dirigido para trás, alcançando ou não a região pós-anal do corpo; curva-se em U de convexidade posterior, tomando a direção anterior. Ovário posterior dirigido para diante, pouco sinuoso, terminando no têrço anterior da região pós-vulvar do corpo. Ovos de casca fina, lisa e mole; são deformáveis e medem 0,067 a 0,080 mm de comprimento por 0,042 a 0,050 mm de largura. Larvas intra-uterinas numerosas. Ânus, com lábios fracamente salientes ou não, situado a 0,41 a 0,93 mm da ponta da cauda. Intestino terminado por um reto forte, que mede 0,12 a 0,23 mm de comprimento. Cauda digitiforme, terminada por um apêndice afilado, de 0,118 a 0,143 mm de comprimento.

Machos com espículos iguais, pouco quitinisados, com base levemente alargada e ponta atenuada; medem 0,122 a 0,134 mm de comprimento. Gubernáculo ausente. Papilas caudais presentes, pequenas, em número de treze pares assim distribuídos: 6 pré-anais, sub-laterais, e 7 pós-anais. No bordo anterior do ânus existe uma pequena papila. Nas regiões anal e pré-anal observam-se fibras musculares radiais bem desenvolvidas. Pseudo-ventosa pré-anal ausente. Tubo genital dirigido para diante. Canal ejaculador forte. Canal deferente curto. Testículo mais ou menos longo, com curvatura em U de convexidade anterior. Ânus, com lábio anterior saliente, situado a 0,17 a 0,23 mm da ponta da cauda. Cauda com curvatura ventral, atenuada, terminada por um apêndice delgado, de ápice agudo, que mede 0,042 a 0,063 mm de comprimento.

Habitat — Intestino delgado de ? *Hyla nasica* Cope.

Proveniência — Ilha Sêca, Estado de S. Paulo, Brasil.

Material estudado — Depositado na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz sob os números 23. 275 a-j (parátipos), 23.276 (parátipo), 23.277 a-b (parátipos), 23.278 a-d (parátipos), 23.279 a-b (holótipo macho e alótipo fêmea) e 23.280 a-c (parátipos).

No Quadro XIII damos as principais medidas de alguns espécimes.

A interrogação que precede o nome do hospedador está de acôrdo com a indicação existente no relatório da terceira excursão do Instituto Oswaldo Cruz à zona da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil.

Discussão — *P. caudacutus* sp. n. distingue-se de *P. similis* (Travassos, 1920) Freitas, 1958 pelo esôfago mais curto, pelo apêndice caudal mais longo e, ainda, pelo alongamento mais pronunciado da porção posterior do corpo nas fêmeas adultas, o que trás a impressão de ser a abertura vulvar situada mais anteriormente.

QUADRO XIII

Pteroxyascaris caudacutus sp. n.
(Medidas em milímetros)

Espécime	Holótipo	Parátipo	Parátipo	Parátipo	Parátipo	Alótipo	Parátipo	Parátipo	Parátipo	Parátipo
Col. Helm. I.O.C. n.º	23279 a	23275 a	23275 b	23275 e	23275 f	23279 b	23280 b	23275 h	23276	23277 b
Sexo	Macho	Macho	Macho	Macho	Macho	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea
Comprimento	3,01	2,78	3,05	3,62	3,11	11,79	11,12	13,67	16,21	5,63
Largura	0,17	0,17	0,17	0,20	0,17	0,33	0,27	0,37	0,30	0,13
Faringe	0,035	0,035	0,035	0,035	0,035	0,052	0,043	0,043	0,052	0,043
Esôfago	0,41	0,44	0,37	0,38	0,36	0,56	0,56	0,53	0,63	0,43
Bulbo (com ístmo)	0,096 x 0,061	0,096 x 0,061	0,104 x 0,070	0,122 x 0,065	0,122 x 0,065	0,157 x 0,104	0,139 x 0,091	0,148 x 0,113	0,157 x 0,104	0,130 x 0,070
Anel nervoso	0,19	0,18	0,19	0,24	0,20	0,27	0,28	0,27	0,28	?
Poro excretor	0,26	0,21	0,29	0,30	0,30	0,51	0,46	0,46	0,50	0,31
Vulva	—	—	—	—	—	3,52	3,75	4,19	5,33	2,01
Ovos	—	—	—	—	—	0,076 x 0,046	0,080 x 0,042	0,067 x 0,042	0,080 x 0,050	—
Reto	—	—	—	—	—	0,23	0,18	0,22	0,22	0,12
Anus	0,21	0,21	0,17	0,23	0,20	0,73	0,66	0,93	0,91	0,41
Espículos	0,134	0,134	0,126	0,122	0,134	—	—	—	—	—
Apêndice caudal	0,042	0,063	0,050	0,063	0,063	0,118	0,134	0,143	0,126	0,130

Megalobatrachonematinae Freitas, 1958

Megalobatrachonematinae Freitas, 1958: 35, 36-37

Oxyascarididae. Bôca com lábios indistintos. Ístmo não diferenciado. Fêmeas com ovários opostos; ovário anterior atingindo a zona esofagiana; ovário posterior terminando na região pós-anal; cauda atenuada, sem apêndice terminal; reto pouco desenvolvido. Machos providos de pseudo-ventosa pré-anal. Parasitos de anfíbios.

Gênero tipo e único — *Megalobatrachonema* Yamaguti, 1941.

Megalobatrachonema Yamaguti, 1941

Megalobatrachonema Yamaguti, 1941: 405
Megalobatrachonema Walton, 1943: 13
Megalobatrachonema Skrjabin, Shikhobalova & Mozgovoi, 1951: 270
Megalobatrachonema Skrjabin, 1954: 843
Megalobatrachonema Chabaud & Golvan, 1957: 248, 259
Megalobatrachonema Freitas, 1958: 37

Megalobatrachonematinae. Asas laterais ausentes. Machos com cinco pares de papilas pré- e três ou quatro pós-anais. Gubernáculo presente. Parasitos de anfíbios.

Espécie tipo e única — *M. nipponicum* Yamaguti, 1941.

Êste gênero foi proposto por Yamaguti, em 1941, com a seguinte diagnose:

"*Kathlaniidae* (Travassos, 1918) closely related to *Spironoura* Leidy, 1856. Body tapering toward extremities. Cuticle smooth. No lateral flanges. Mouth small, without definite lips. Vestibule absent. Esophagus consisting of a short, anterior portion (pharynx) and a long, narrow, posterior portion ending in a simple glandular bulb. Tail of both sexes tapering and pointed. Male: preanal muscles well developed; pseudo-sucker present; caudal alae absent; preanal and postanal papillae few; spicules equal; gubernaculum present. Female: uteri opposed; vulva in posterior half of body. Parasites of urodela."

A estrutura glandular do bulbo esofagiano levou-nos (Freitas, 1958) a considerá-lo entre os *Oxyascarididae* (Travassos, 1920), propondo sua inclusão em nova subfamília. Estudos posteriores, mais detalhados, talvez evidenciem sua retirada desta família, a fim de constituir um grupo independente.

Megalobatrachonema nipponicum Yamaguti, 1941

(Est. 21, figs. 70-71; est. 22, fig. 72)

Megalobatrachonema nipponicum Yamaguti, 1941: 397, 403-404, figs. 6-8
Megalobatrachonema nipponicum Walton, 1943: 13
Megalobatrachonema nipponicum Skrjabin, Shikhobalova Mozgovoi, 1951: 270
Megalobatrachonema nipponicus Skrjabin, 1954: 582 (*sic*)
Megalobatrachonema nipponicum Skrjabin, 1954: 893
Megalobatrachonema nipponicum Chabaud & Golvan, 1957: 259, 260
Megalobatrachonema nipponicum Freitas, 1958: 37

Comprimento — Machos 9,3 a 11,5 mm; fêmeas 12 a 13 mm.

Largura — Machos 0,31 a 0,45 mm; fêmeas 0,4 a 0,5 mm.

Corpo com cutícula lisa. Asas laterais ausentes. Extremidade anterior atenuada. Bôca pequena, sem lábios definidos. Vestíbulo ausente. Esôfago com 0,92 a 1,15 mm de comprimento nos machos e 1,0 a 1,2 mm nas fêmeas. O esôfago apresenta uma faringe pouco diferenciada, que mede 0,075 a 0,080 mm de comprimento nos machos e 0,080 mm nas fêmeas. Termina o esôfago por um bulbo glandular, com aparêlho valvular. Mede o bulbo 0,1 a 0,135 mm de diâmetro nos machos e 0,12 a 0,13 mm nas fêmeas. Não é êle precedido de pré-bulbo. (Ístmo do esôfago não diferenciado). Anel nervoso distando 0,28 a 0,33 mm da extremidade anterior nos machos e 0,3 a 0,35 mm nas fêmeas. Poro excretor situado a 0,65 a 0,77 mm da extremidade cefálica nas fêmeas. Papilas cervicais distando 0,45 a 0,49 mm da extremidade anterior nos machos e 0,45 a 0,54 mm nas fêmeas.

Fêmeas adultas, não grávidas, didelfas, anfidelfas. Vulva situada na metade posterior do corpo, a 4,6 a 5,3 mm da extremidade caudal, dividindo o corpo na razão de 1,3-1,5:1. Ovejetor dirigido para diante, com 0,25 a 0,4 mm de comprimento. Úteros opostos. O ovário anterior pode se estender até quase o nível do anel nervoso e o ovário posterior até a extremidade caudal do corpo. Cauda alongada, pontuda, com 0,92 a 1,4 mm de comprimento.

Machos com espículos iguais, de 0,65 a 1,0 mm de comprimento. Gubernáculo presente, com 0,11 mm de comprimento; às vêzes é indistinto. Papilas caudais presentes, pequenas, em número de nove a dez pares assim distribuídos: 5 pré-, 1 ad- e 3 a 4 pós-anais. Fibras musculares radiais bem desenvolvidas na região pré-anal do corpo. Pseudo-ventosa pré-anal presente, distando 1,9 a 2,3 mm da abertura anal. Extremidade posterior com curvatura ventral. Cauda com 0,41 a 0,55 mm de comprimento, terminada em ponta aguda.

Habitat — Intestino delgado de *Megalobatrachus japonicus* (Temm.).

Distribuição geográfica — Japão (Syuzan, próximo de Kyoto).

Os tipos e parátipos desta espécie estão incluídos na Coleção Helmintológica Yamaguti.

A descrição acima é uma tradução adaptada da de Yamaguti, de quem reproduzimos as figuras.

BIBLIOGRAFIA

Baylis, H. A. & Daubney, R., 1926, *A Synopsis of the Families and Genera of Nematoda*, XXXVI, 277 pp., London.

Chalaud, A. G. & Golvan, Y. J., 1957, *Megalobatrachonema campanae* n. sp. (Nematoda Kathlaniinae) parasite de tritons de la région parisienne. *Ann. Parasit.*, 32 (3): 243-263, figs.

Freitas, J. F. T., 1958, Breve nota sôbre alguns nematódeos de répteis e anfíbios. *Atas Soc. Biol. Rio de Janeiro*, julho/agôsto: 35-38.

Freitas, J. F. T. & Dobbin Jr., J. E., 1957, Novo nematódeo parasito de *Rana palmipes* Spix: *Subulascaris falcaustriformis* (Nematoda, Ascaridiformes). *Rev. Brasil. Biol.*, 17 (2): 245-248, 11 figs.

Skrjabin, K. I., 1954, *Descriptive Catalogue of Parasitic Nematodes, 4, Host Catalogue and Index*, pp. 487-921, Izdatelstvo Akad. Nauk SSSR, Moscow (em russo).

Skrjabin K. I. & Shikhobalova, N. P., 1951, A reconstruction of the classification of nematodes of the suborder *Oxyurata* Skrjabin, 1923. *Trudi Gelmintologicheskoi Lab. Akad. Nauk SSSR*, 5: 5-8 (em russo; não visto).

Skrjabin, K. I., Shikhobalova, N. P. & Mozgovoi, A. A., 1951, *Descriptive Catalogue of Parasitic Nematodes, 2, Oxyurata and Ascaridata*, 631 pp., 243 figs., Izdatelstvo Akad. Nauk SSSR, Moscow (em russo).

Travassos, L., 1920, Contribuições para o conhecimento da fauna helmintológica brasileira. *Arch. Esc. Sup. Agric. Med. Vet.*, 4 (1): 17-20, ests. 2-6, 8 figs.

Travassos, L., 1924, Pesquisas científicas realizadas em Angra dos Reis, I. *Folha Med.*, 5 (13): 152-153, 8 figs.

Travassos, L., 1925, Contribuições para o conhecimento da fauna helmintológica dos batráquios do Brasil. Nematódeos intestinais. *Sci. Med.*, 3 (11): 673-687, 8 figs.

Travassos, L., 1944, Relatório da excursão do Instituto Oswaldo Cruz ao Município de Santa Teresa, no Estado do Espírito Santo, em agôsto e setembro de 1943. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 40 (2): 121-128.

Travassos, L. & Freitas, J. F. T., 1941, Relatório da terceira excursão à zona da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, em fevereiro e março de 1940. II. Pesquisas helmintológicas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 35 (3): 610-634.

Travassos, L. & Travassos, H., 1957, Excursão científica realizada nas zonas das Estradas de Ferro Noroeste do Brasil e Brasil-Bolívia, em janeiro e fevereiro de 1955. *Publ. Avulsas Mus. Nac.*, 20: 5-19.

Walton, A. C., 1933, The Nematoda as Parasites of Amphibia. *J. Parasit.*, 20 (1): 1-32, pl. 1, 4 figs.

Walton, A. C., 1943, The Nematoda as Parasites of Amphibia. List of Parasites. *Contr. Biol. Lab. Knox Coll.*, 88: 1-35.

Walton, A. C., 1944, The Nematoda as Parasites of Amphibia. Bibliography. *Contr. Biol. Lab. Knox Coll.*, 89: 1-23.

Walton, A. C., 1945a, The Nematoda Parasites of the *Bufoninae*. II. *J. Parasit.*, 31 (Suppl.): 23-24.

Walton, A. C., 1945b, The Nematoda Parasites of the *Bufoninae*. II. *Contr. Biol. Lab. Knox Coll.*, 103: 12-13.

Walton, A. C., 1945c, The Nematoda Parasites of the *Bufoninae* (Amphibia — Salientia — Procoela — Bufonidae). I. *Contr. Biol. Lab. Knox Coll.*, 102: 11-12.

Walton, A. C., 1945d, The Nematoda Parasites of the *Bufoninae* (Amphibia — Salientia — Procoela — Bufonidae). I. *J. Parasit.*, 31 (Suppl.): 24.

Walton, A. C., 1945e, Parasites of Amphibia. Bufonidae: Procoela: Salientia. I. *Trans. Ill. Acad. Sc.*, 38: 113-116.

Walton, A. C., 1947a, Parasites of the *Hylidae* (Amphibia — Hylinae). VI. *Trans. Ill. Acad. Sc.*, 40: 205-214.

Walton, A. C., 1947b, Parasites of the *Hylidae* (Amphibia— Hylinae). VI. *Contr. Biol. Lab. Knox Coll.*, 115: 1-12.

Yamaguti, S., 1941, Studies on the helminth fauna of Japan. Part 34. Amphibian nematodes, II. *Jap. J. Zool.*, 9 (3): 397-408, 10 figs., pl. VII, 19 figs.

Yorke, W. & Maplestone, P. A., 1926, *The Nematode Parasites of Vertebrates*, VII + 536 pp., 307 figs., London.

ESTAMPA 1

Oxyascaris oxyascaris Travassos, 1920 — Espécimes parasitos de *Dryadophis bifossatus* (Radd.)

Figura 1 — Fêmea adulta (n.º 23 231 k).

Figura 2 — Macho (n.º 23 231 b).

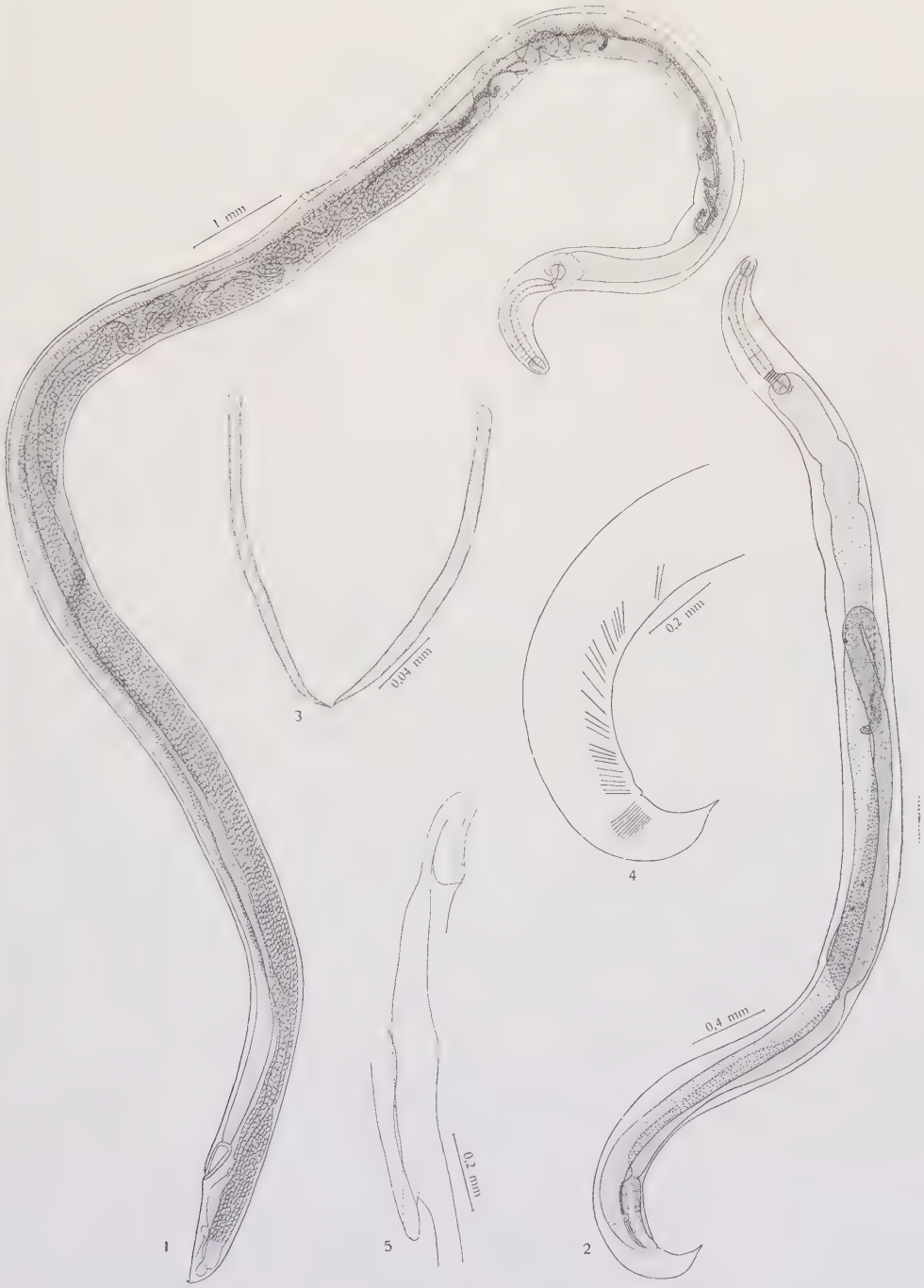
Figura 3 — Espículos, de frente (n.º 23 231 e).

Figura 4 — Cauda do macho, vista lateral, mostrando a musculatura radial (n.º 23 231 b).

Figura 5 — Ovejetor de fêmea jovem (parátipo n.º 23 230 a).

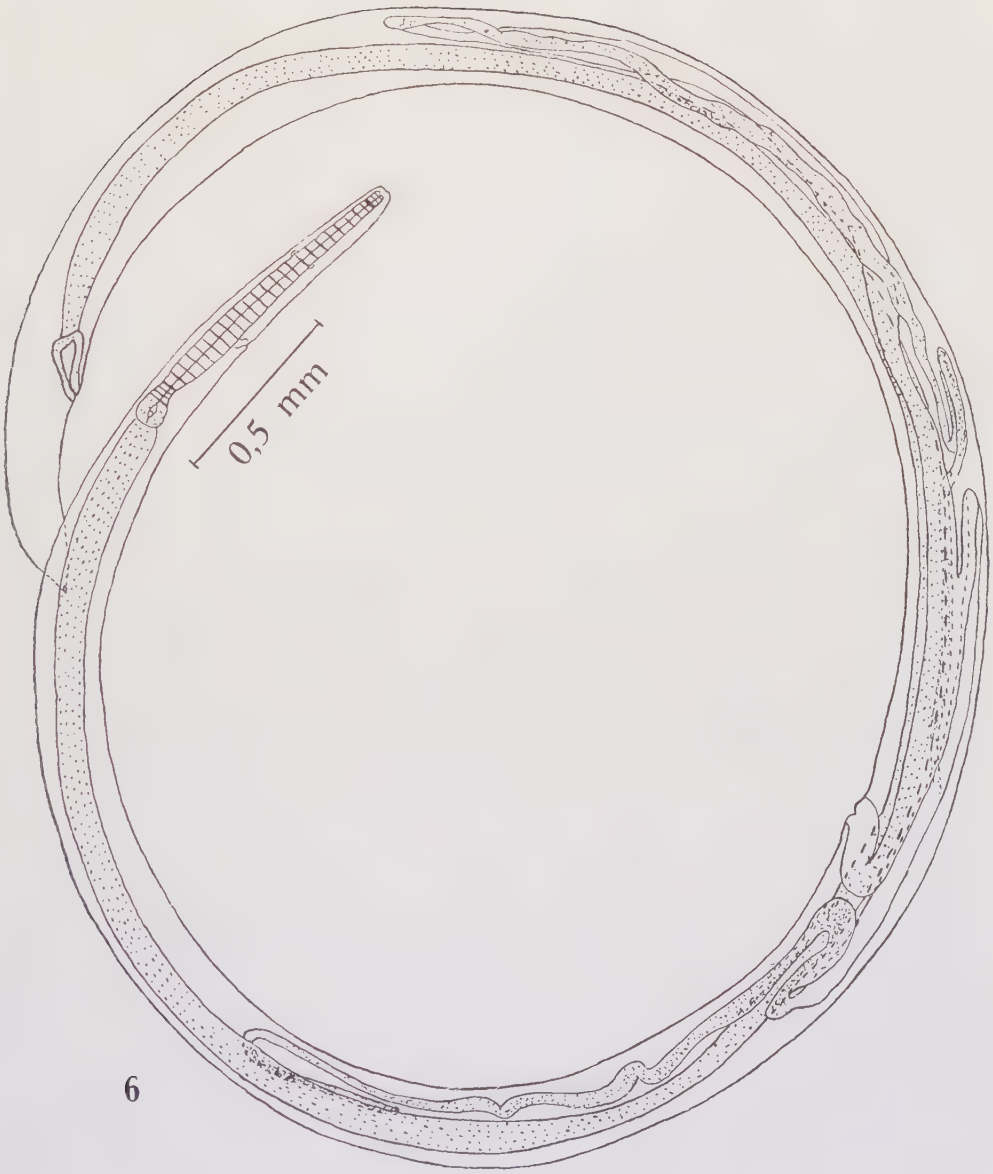
Figuras originais.

ESTAMPA 1



ESTAMPA 2

Figura 6 — Fêmea jovem de *Oxyascaris oxyascaris* Travassos, 1920, parasita de *Dryadophis bifossatus* (Radd.) (parátipo n.º 23 230 a). Original.



6

ESTAMPA 3

Oxyascaris oxyascaris Travassos, 1920 — Espécimes parasitos de *Dryadophis bifossatus* (Radd.)

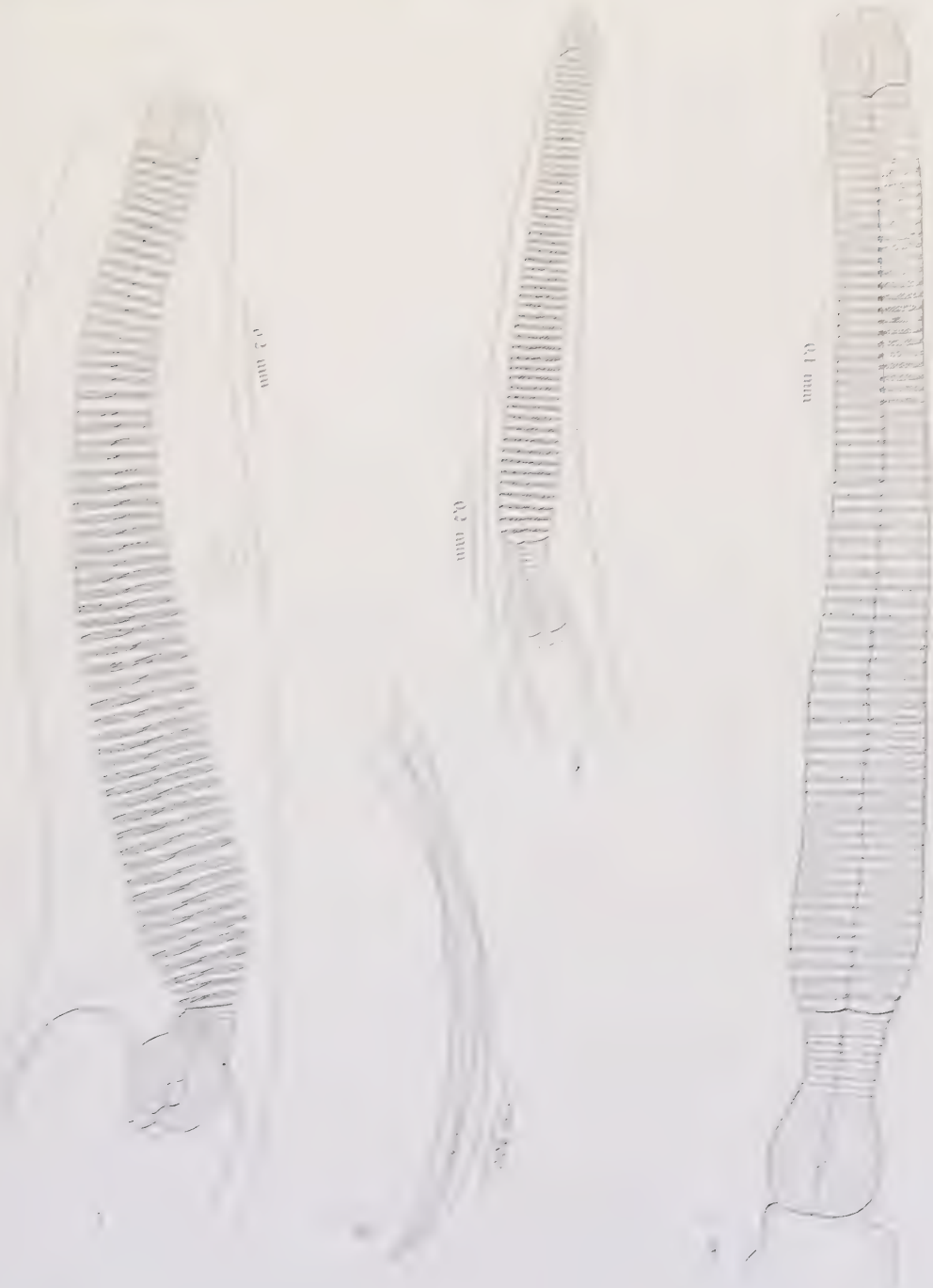
Figura 7 — Extremidade anterior de fêmea adulta, vista lateral (n.º 23 231 l).

Figura 8 — Extremidade anterior de fêmea jovem, vista lateral (parátipo n.º 23 230 a).

Figura 9 — Faringe e esôfago do macho (n.º 23 231 e).

Figura 10 — Espículos, de perfil (n.º 23 231 c).

Figuras originais.



ESTAMPA 4

Oxyascaris oxyascaris Travassos, 1920

Figura 11 — Cauda de macho parasito de *Dryadophis bifossatus* (Radd.), vista lateral (n.º 23 231 a).

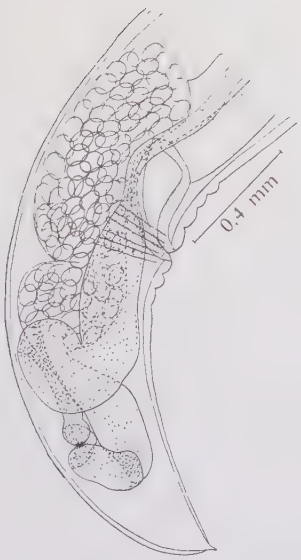
Figura 12 — Cauda de fêmea adulta parasita de *Dryadophis bifossatus* (Radd.), vista lateral (n.º 23 231 l).

Figura 13 — Macho parasito de *Leimadophis poecilogyrus* (Wied) (n.º 23 232 a).

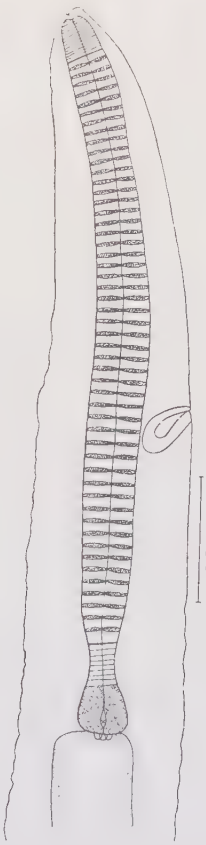
Figura 14 — Extremidade anterior de fêmea adulta parasita de *Herpetodryas carinatus* (L.), vista lateral (n.º 23 233).

Figuras originais.

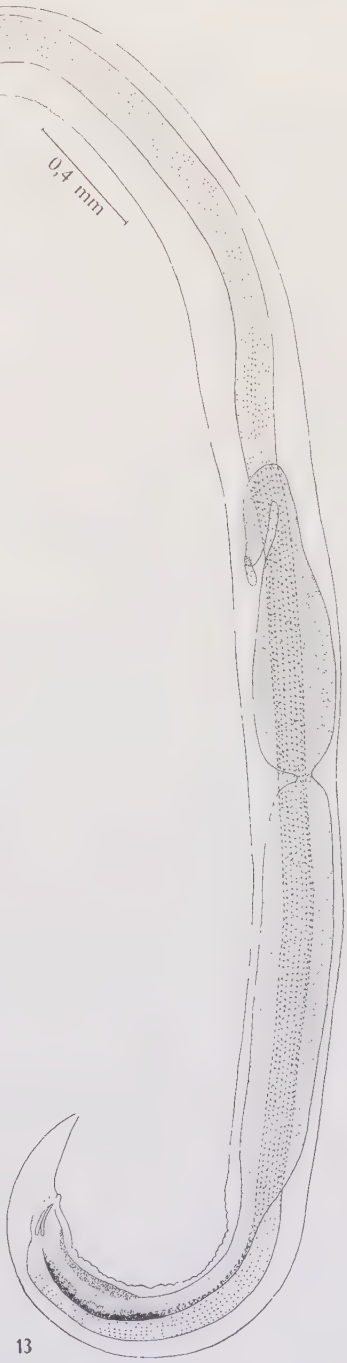
11



12



14



13

ESTAMPA 5

Oxyascaris necopinus sp. n. — Espécimes parasitos de *Leptodactylus sibilatrix* (Wied)

Figura 15 — Fêmea adulta (alótipo n.º 23 235 b).

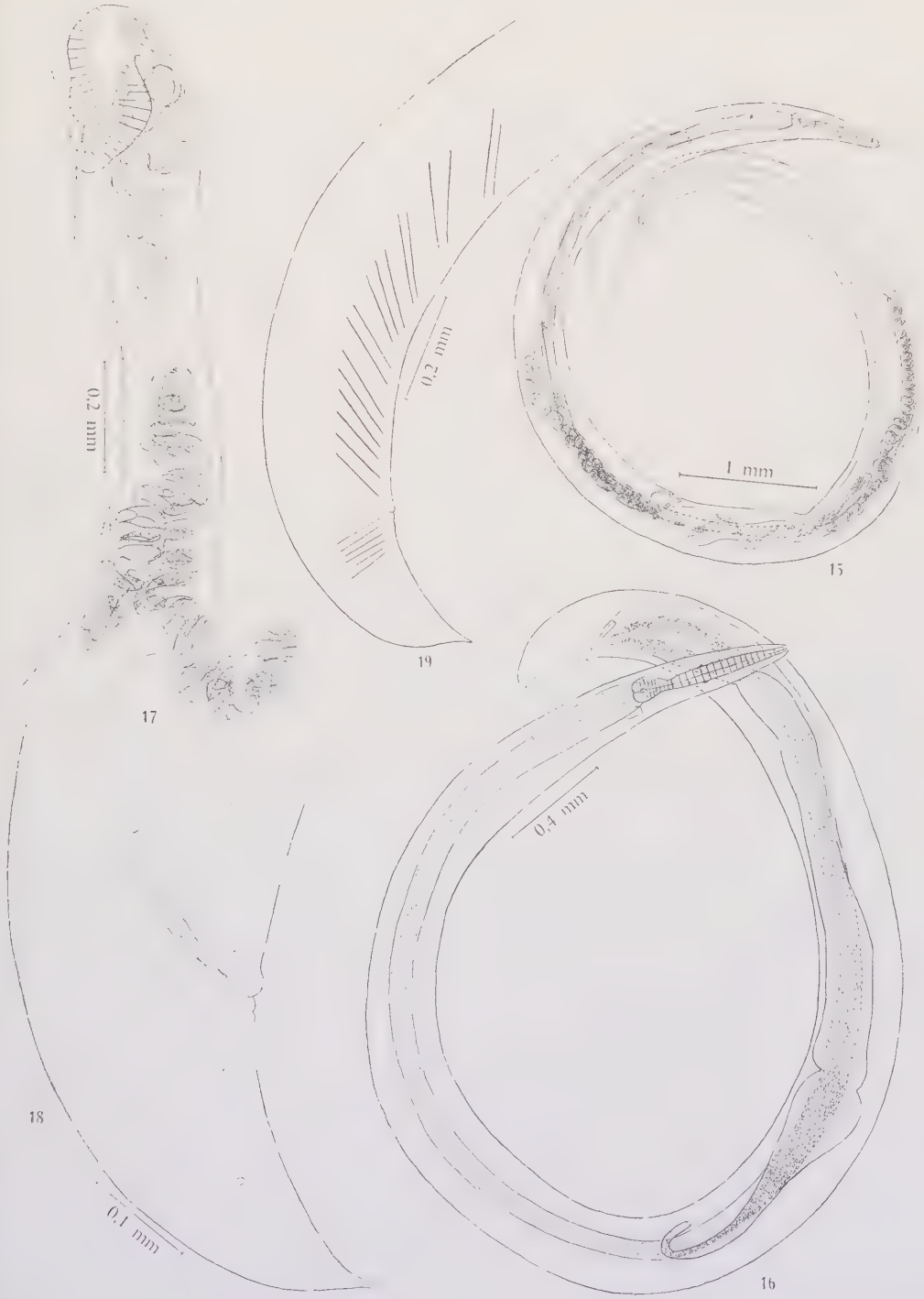
Figura 16 — Macho (holótipo n.º 22 610 a).

Figura 17 — Ovejetor de fêmea adulta (parátipo n.º 23 235 e).

Figura 18 — Cauda do macho, vista lateral (holótipo n.º 22 610 a).

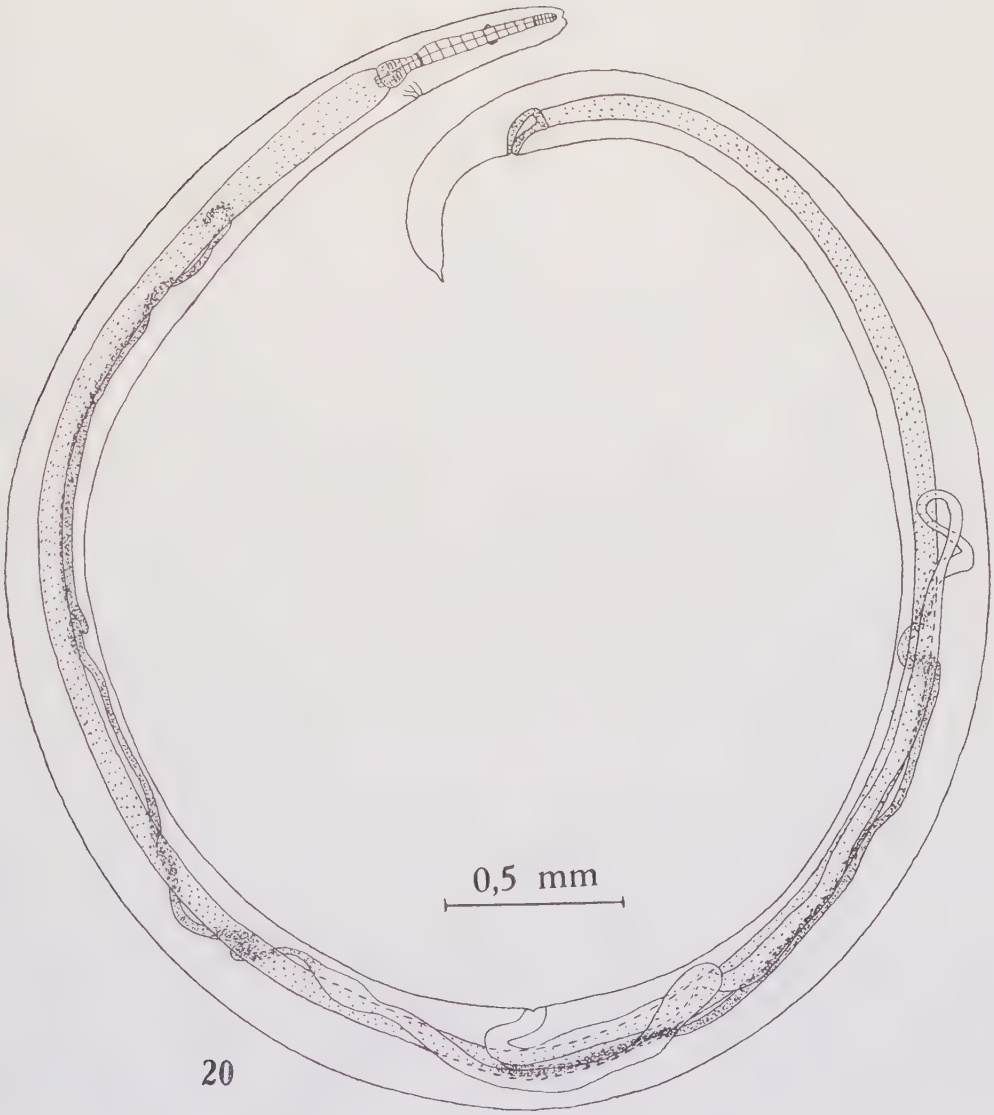
Figura 19 — Cauda do macho, vista lateral, mostrando a musculatura radial (holótipo n.º 22 610 a).

ESTAMPA 5



ESTAMPA 6

Figura 20 — Fêmea jovem de *Oxyascaris necopinus* sp. n. parasita de *Leptodactylus sibilatrix* (Wied) (parátipo n.º 23 235 a).



20

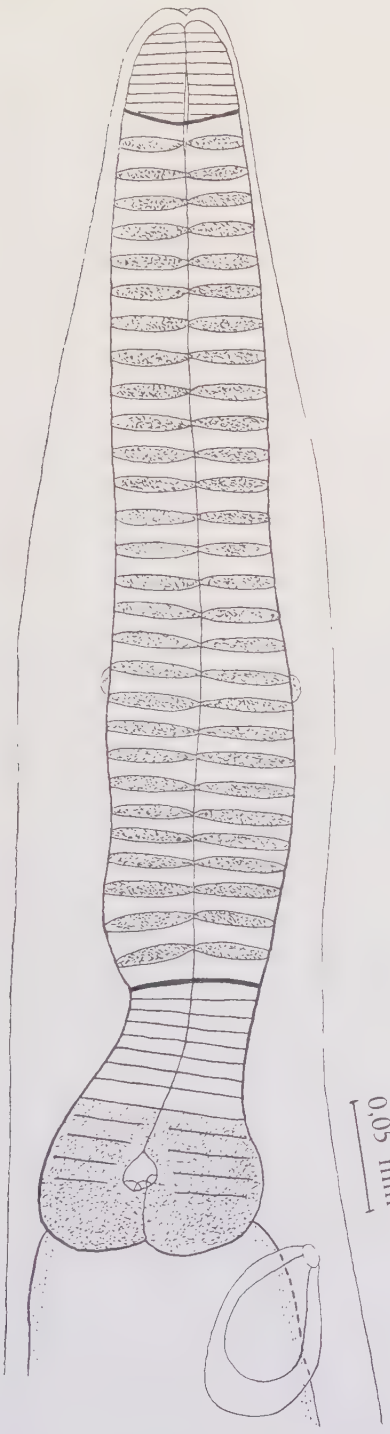
ESTAMPA 7

Oxyascaris necopinus sp. n. — Espécimes parasitos de *Leptodactylus sibilatrix* (Wied)

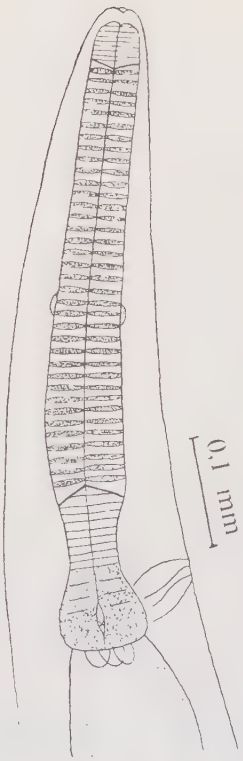
Figura 21 — Extremidade anterior de fêmea adulta, vista lateral (parátipo n.º 23 235 e) .

Figura 22 — Extremidade anterior de fêmea jovem, vista lateral (parátipo n.º 23 235 a) .

Figura 23 — Extremidade anterior do macho, vista quase lateral (holótipo n.º 22 610 a) .



23



22

21

ESTAMPA 8

Oxyascaris necopinus sp. n. — Espécimes parasitos de *Leptodactylus sibilatrix* (Wied)

Figura 24 — Êspículos, de perfil (holótipo n.º 22 610 a).

Figura 25 — Cauda de fêmea adulta, vista lateral (parátipo n.º 22 611 a).

24

25

ESTAMPA 9

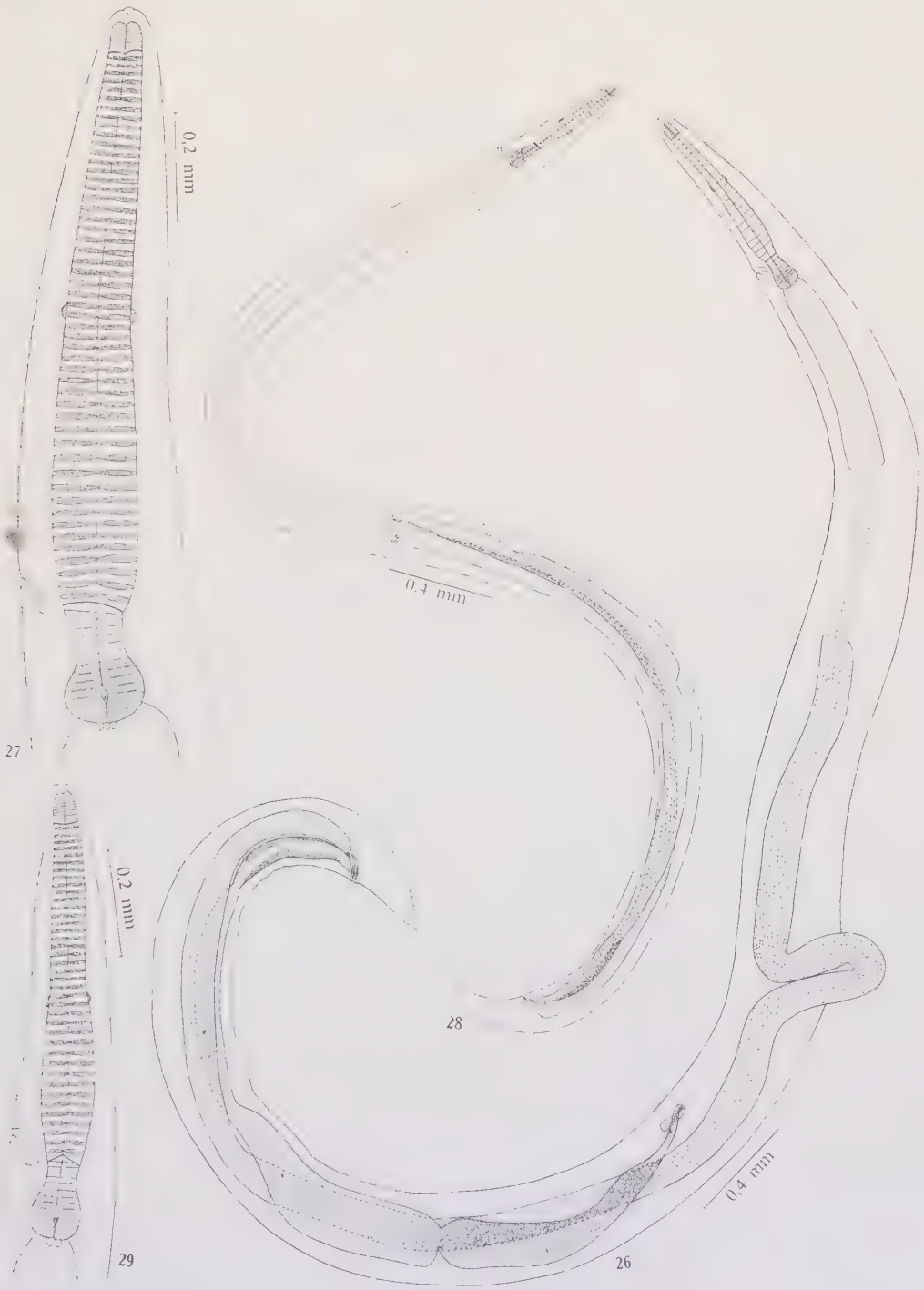
Oxyascaris necopinus sp. n.

Figura 26 — Macho parasito de *Leptodactylus ocellatus* (L.) (n.º 23 237 a).

Figura 27 — Extremidade anterior de fêmea adulta parasita de *Leptodactylus ocellatus* (L.), vista lateral (n.º 23 237 b).

Figura 28 — Macho parasito de *Pleurodema diplolistris* (Peters) (n.º 23 238 a).

Figura 29 — Extremidade anterior de fêmea adulta parasita de *Pleurodema diplolistris* (Peters), vista lateral (n.º 23 238 b).


0.2 mm
0.4 mm
0.2 mm
0.4 mm
27
28
29
26

ESTAMPA 10

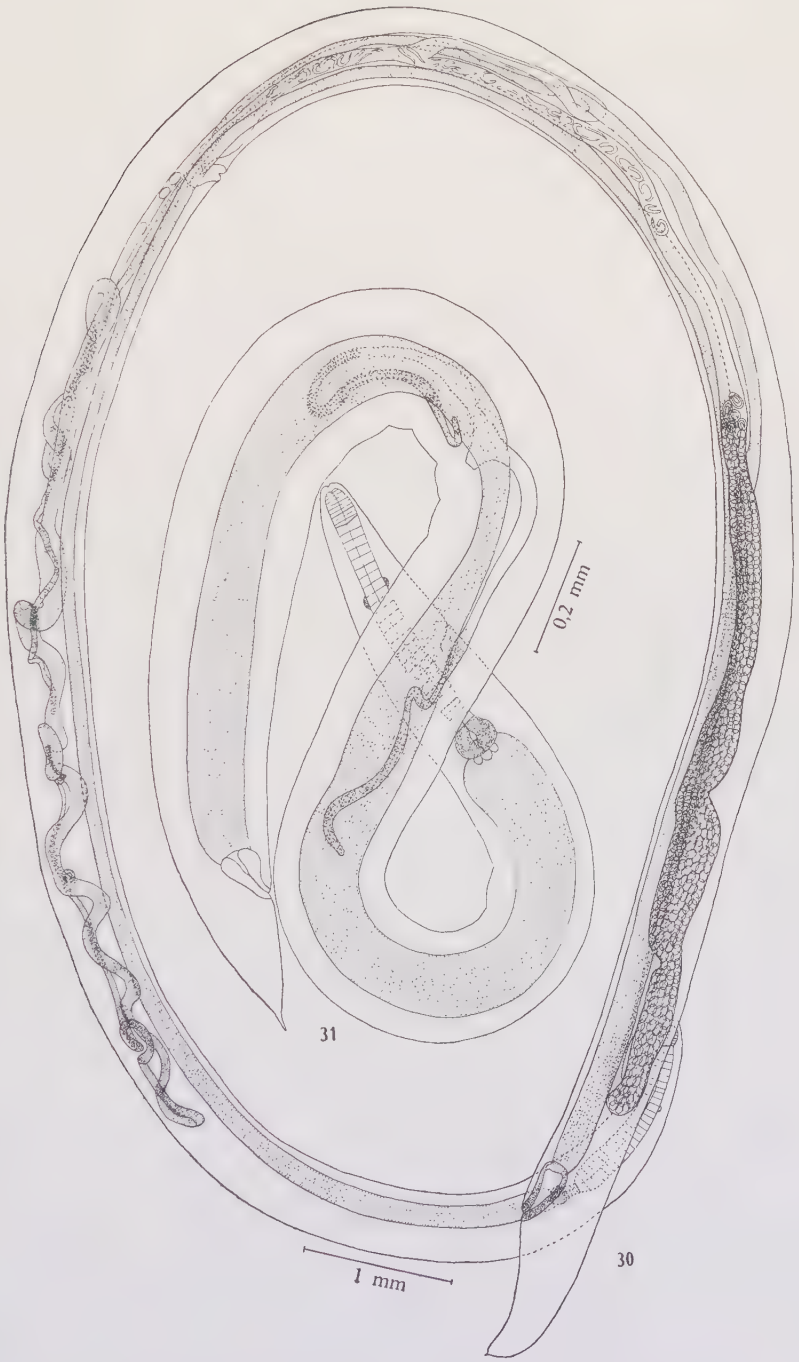
Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958
Espécimes parasitos de *Leptodactylus ocellatus* (L.)

Figura 30 — Fêmea adulta (n.º 23 240).

Figura 31 — Larva do 3.º estádio (tipo feminino) (n.º 23 255 d).

Figuras originais.

ESTAMPA 10



ESTAMPA 11

Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958
Espécimes parasitos de *Leptodactylus ocellatus* (L.)

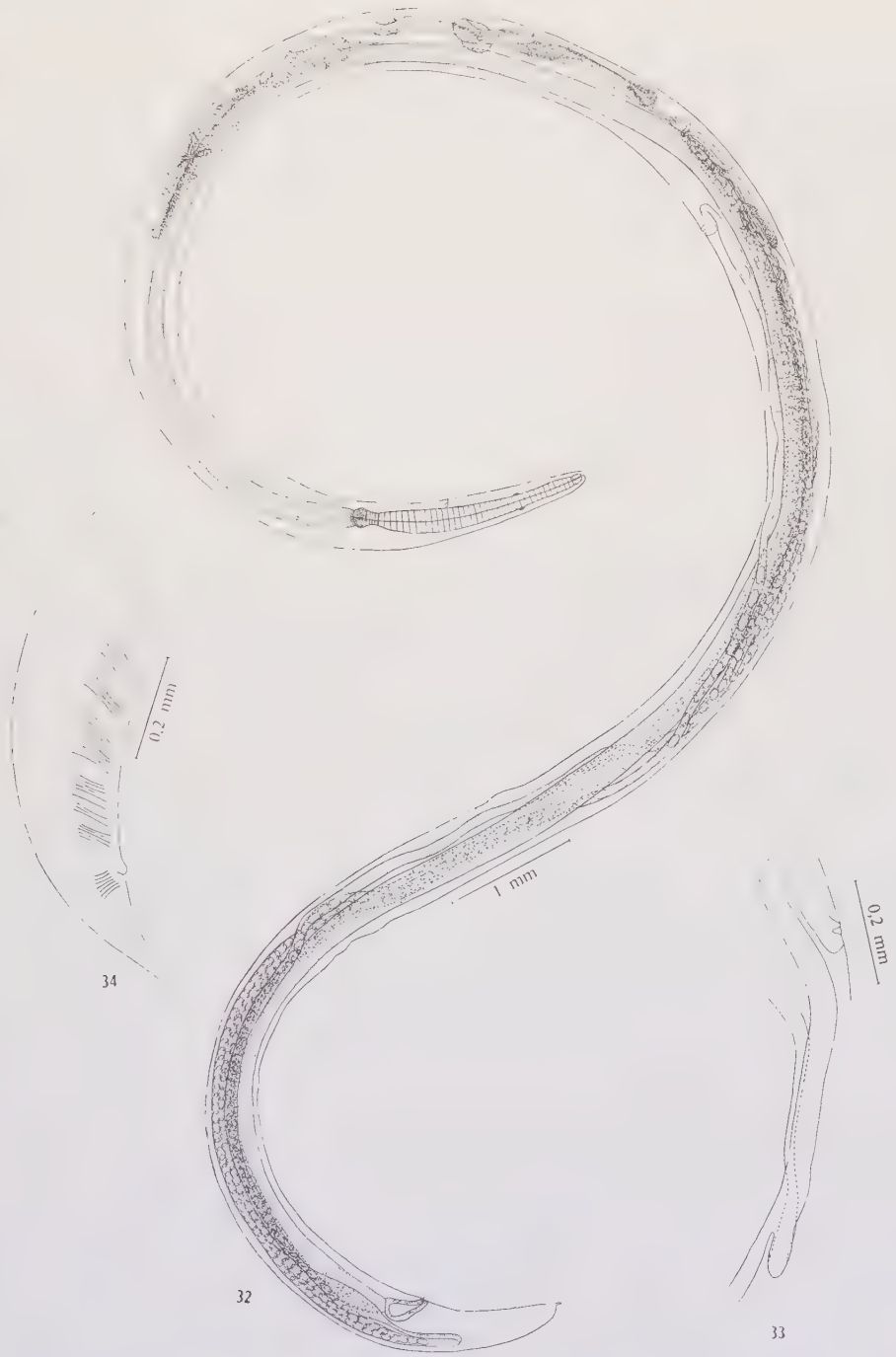
Figura 32 — Fêmea adulta (n.º 23 253 b).

Figura 33 — Ovejetor de fêmea jovem (n.º 23 241 a).

Figura 34 — Cauda do macho, vista lateral, mostrando a musculatura radial (n.º 23 255 a).

Figuras originais.

ESTAMPA 11



ESTAMPA 12

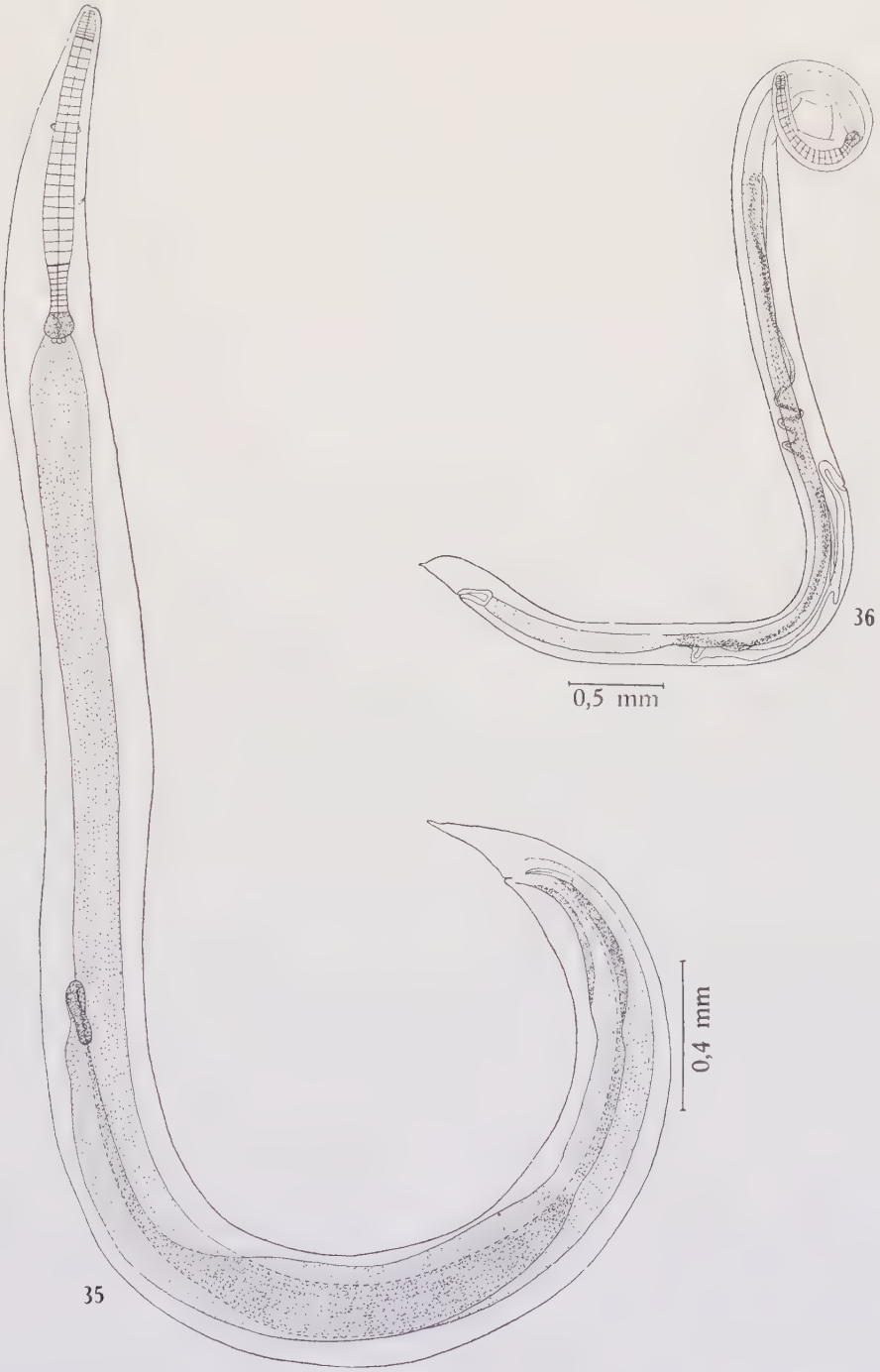
Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958
Espécimes parasitos de *Leptodactylus ocellatus* (L.)

Figura 35 — Macho (n.º 23 255 a).

Figura 36 — Fêmea jovem (n.º 23 241 a).

Figuras originais.

ESTAMPA 12



ESTAMPA 13

Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958
Espécimes parasitos de *Leptodactylus ocellatus* (L.)

Figura 37 — Faringe e esôfago do macho (n.º 23 245 a).

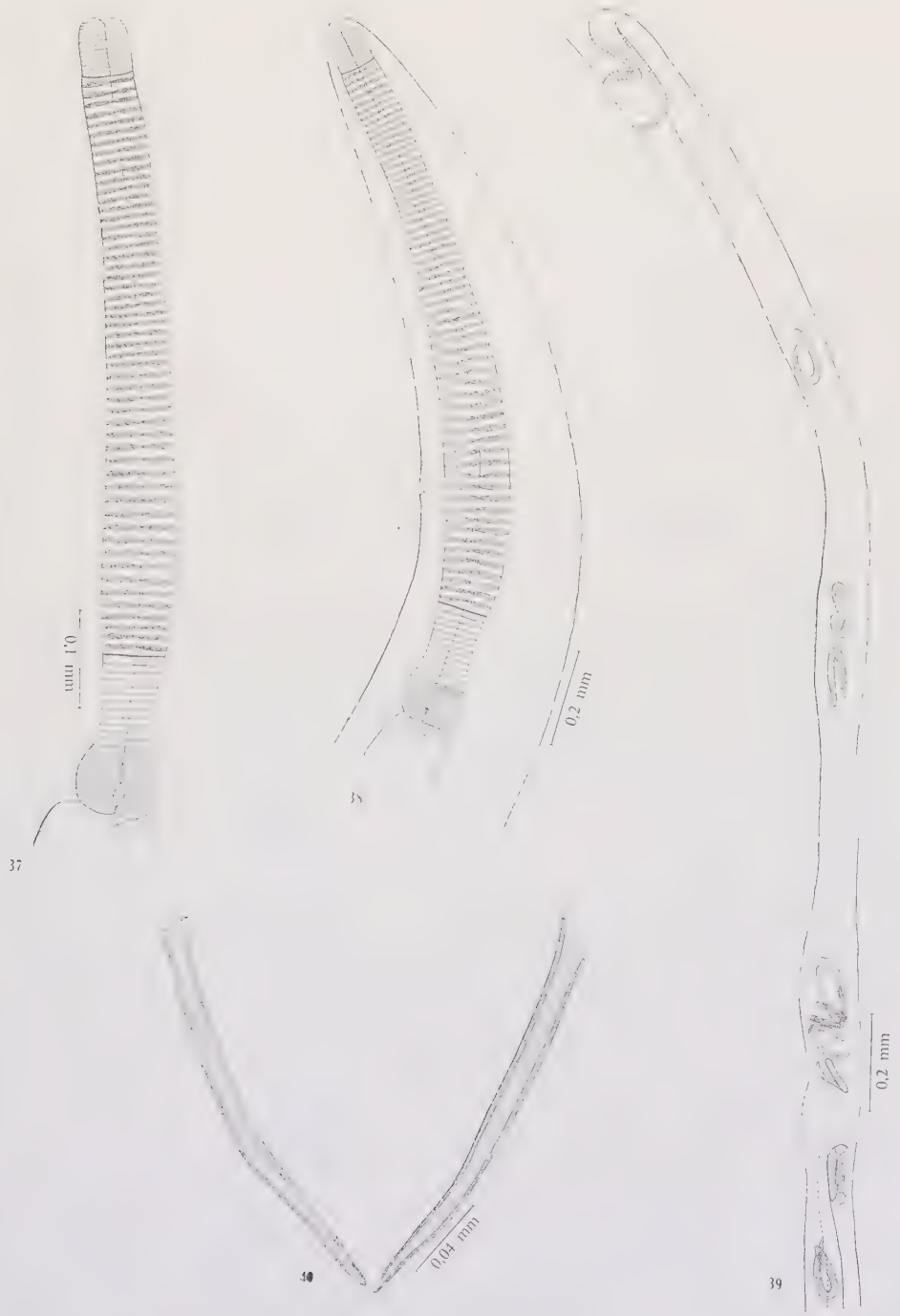
Figura 38 — Extremidade anterior de fêmea adulta, vista lateral (n.º 23 243 a).

Figura 39 — Ovejetor de fêmea adulta (n.º 23 253 b).

Figura 40 — Espículos, de frente (lectoholótipo n.º 1 663).

Figuras originais.

ESTAMPA 13



ESTAMPA 14

Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958
Espécimes parasitos de *Leptodactylus ocellatus* (L.)

Figura 41 — Cauda de fêmea jovem, vista lateral (n.º 23 241 a).

Figura 42 — Cauda de fêmea adulta, vista lateral (n.º 23 243 a).

Figura 43 — Cauda de fêmea adulta, vista lateral (n.º 23 245 d).

Figura 44 — Cauda do macho, vista lateral (n.º 23 246 a).

Figura 45 — Espículos, de perfil (n.º 23 246 a).

Figuras originais.

ESTAMPA 14

ESTAMPA 15

Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958

Figura 46 — Macho parasito de *Bufo* sp. (n.º 23 260 f).

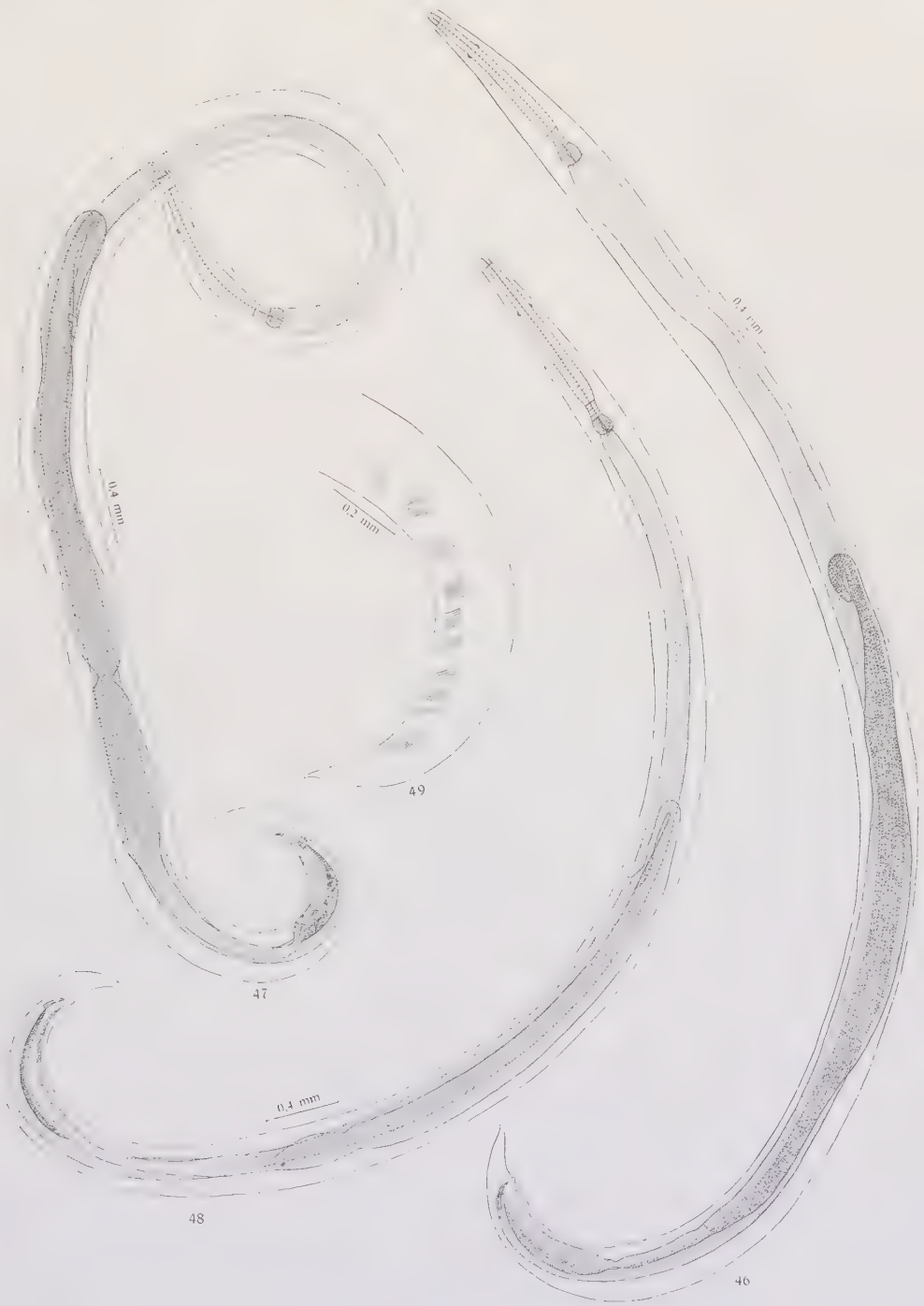
Figura 47 — Macho parasito de *Bufo crucifer* Wied (n.º 23 265 b).

Figura 48 — Macho parasito de *Bufo crucifer* Wied (n.º 23 268 a).

Figura 49 — Cauda de macho parasito de *Bufo crucifer* Wied, vista lateral, mostrando a musculatura radial (n.º 23 268 a).

Figuras originais.

ESTAMPA 15



ESTAMPA 16

Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958

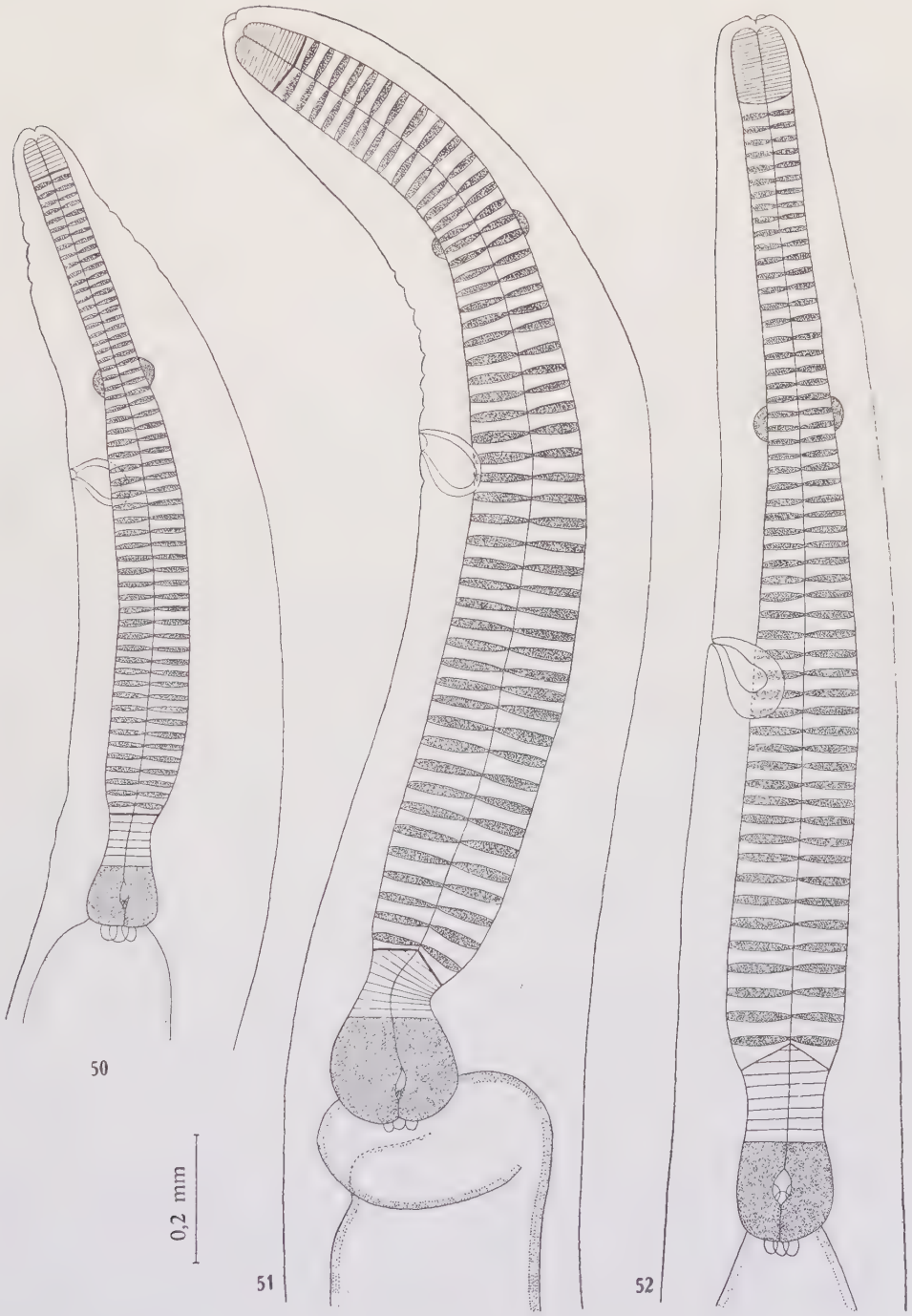
Figura 50 — Extremidade anterior de fêmea adulta parasita de *Leptodactylus pentadactylus* (Laur.), vista lateral (n.º 23 258 a).

Figura 51 — Extremidade anterior de fêmea adulta parasita de *Bufo marinus* L., vista lateral (n.º 23 270 a).

Figura 52 — Extremidade anterior de fêmea adulta parasita de *Bufo crucifer* Wied, vista lateral (n.º 23 267 c).

Figuras originais; tôdas na mesma escala.

ESTAMPA 16



ESTAMPA 17

Pteroxyascaris similis (Travassos, 1920) Freitas, 1958

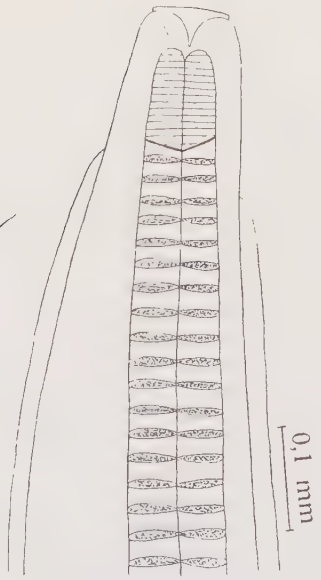
Figura 53 — Extremidade cefálica de macho parasito de *Bufo* sp., vista ventral, mostrando a porção inicial das asas laterais (n.º 23 260 g).

Figura 54 — Cauda de macho parasito de *Hyla faber* Wied, vista lateral (n.º 23 273).

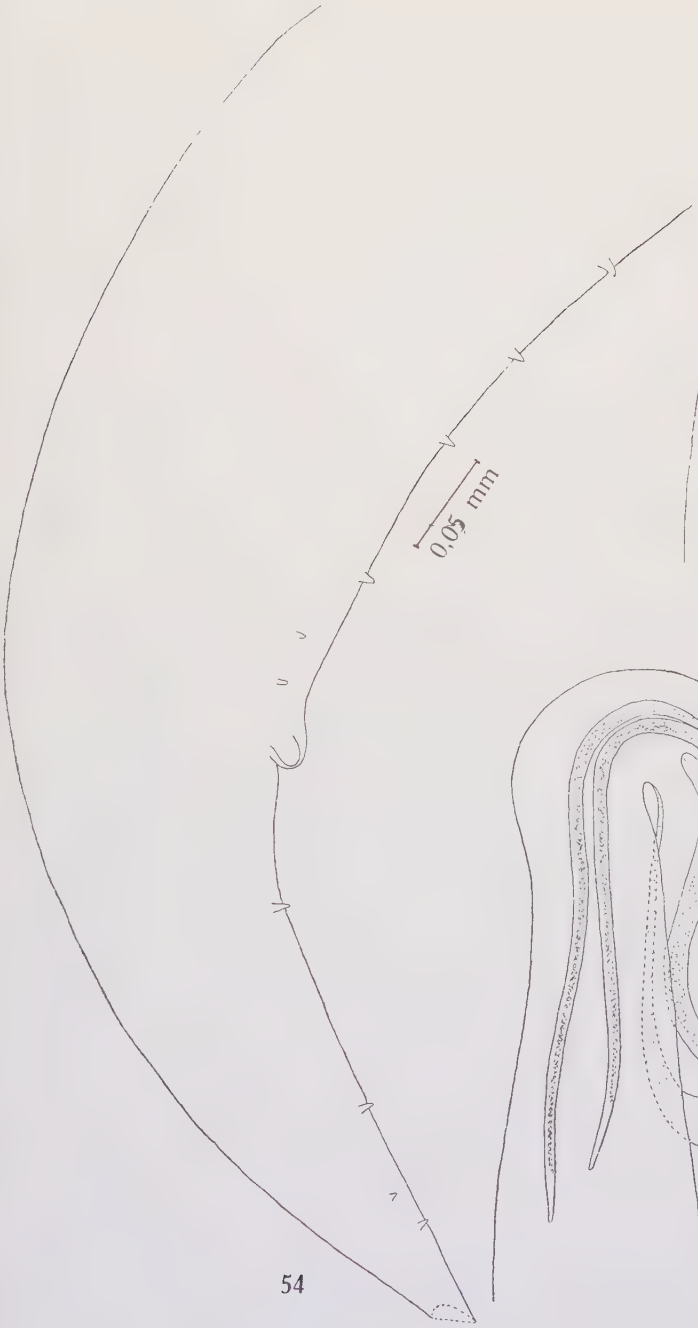
Figura 55 — Região vulvar de fêmea parasita de *Hyla faber* Wied, ao eliminar uma larva (n.º 23 271 c).

Figuras originais.

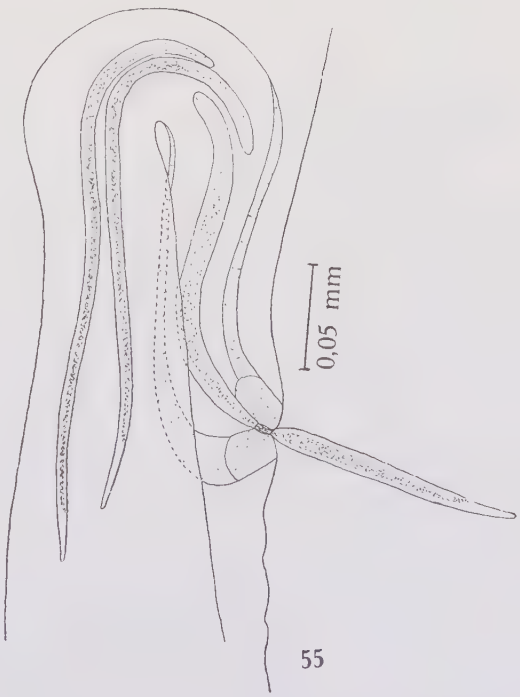
ESTAMPA 17



53



54



55

ESTAMPA 18

Pteroxyascaris caudacutus sp. n.

Figura 56 — Fêmea adulta (alótipo n.º 23 279 b).

Figura 57 — Macho (holótipo n.º 23 279 a).

Figura 58 — Fêmea jovem (parátipo n.º 23 277 b).

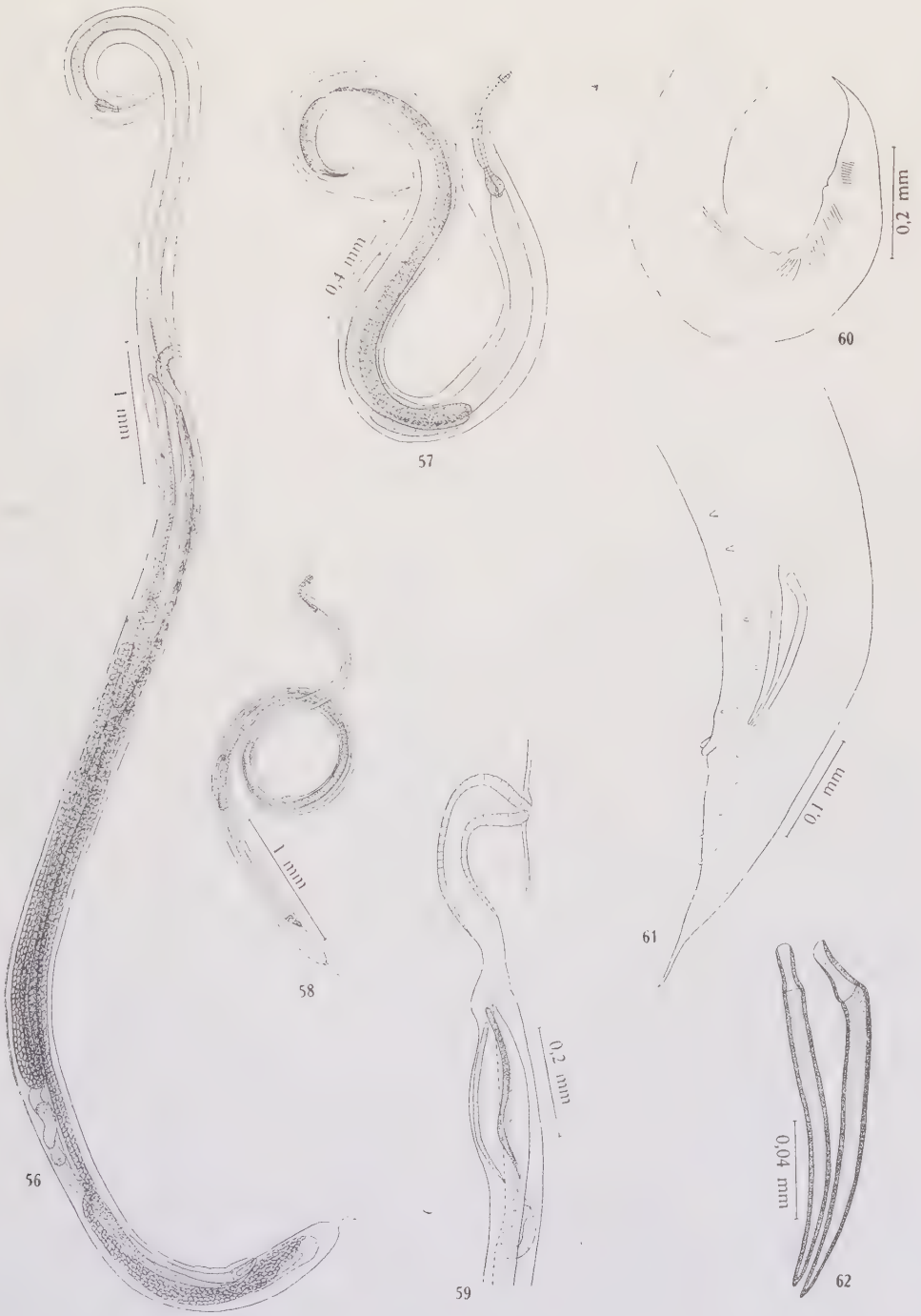
Figura 59 — Ovejetor do alótipo (n.º 23 279 b).

Figura 60 — Cauda do holótipo, vista lateral, mostrando a musculatura radial (n.º 23 279 a).

Figura 61 — Cauda do macho, vista lateral (parátipo n.º 23 275 a).

Figura 62 — Espículos, de perfil (parátipo n.º 23 275 a).

ESTAMPA 18



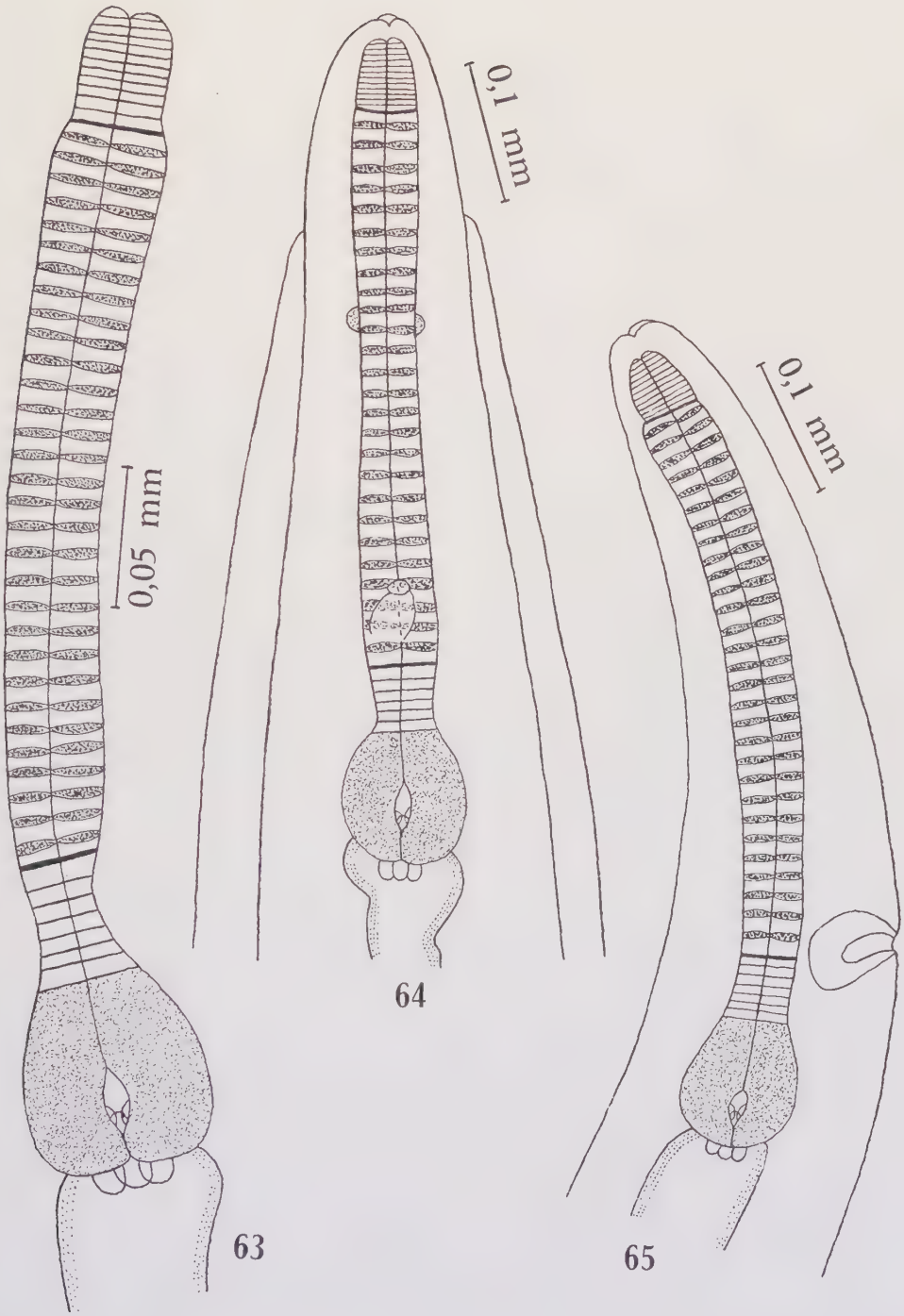
ESTAMPA 19

Pteroxyascaris caudacutus sp. n.

Figura 63 — Faringe e esôfago de macho (parátipo n.º 23 275 f).

Figura 64 — Extremidade anterior de fêmea adulta, vista lateral, mostrando a porção inicial das asas laterais (parátipo n.º 23 275 i).

Figura 65 — Extremidade anterior de fêmea adulta, vista lateral (parátipo n.º 23 278 b).



63 64 65

ESTAMPA 20

Pteroxyascaris caudacutus sp. n.

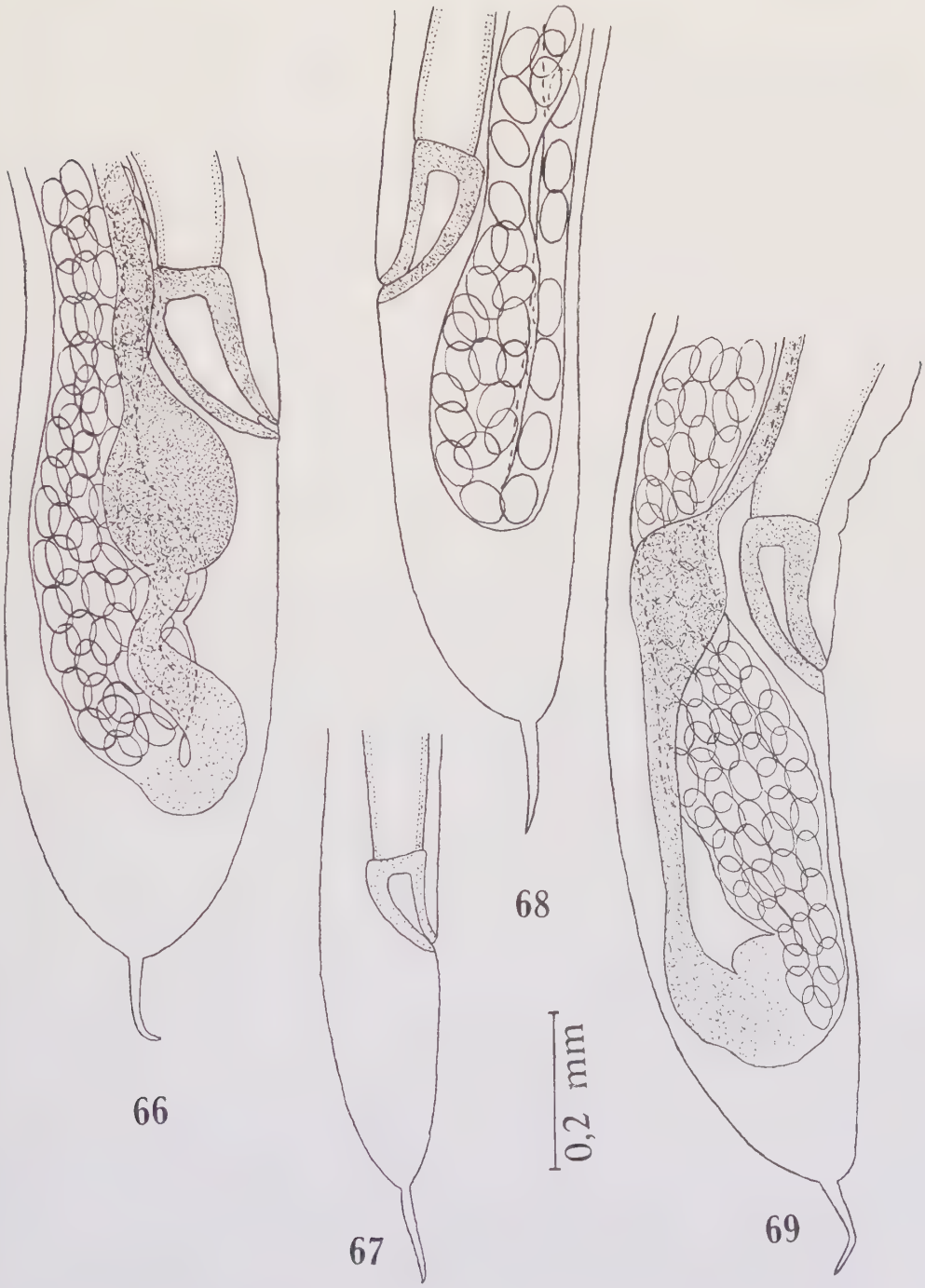
Figura 66 — Extremidade posterior de fêmea adulta, vista lateral (parátipo n.º 23 280 a).

Figura 67 — Extremidade posterior de fêmea jovem, vista lateral (parátipo n.º 23 277 b).

Figura 68 — Extremidade posterior de fêmea adulta, vista lateral (parátipo n.º 23 280 c).

Figura 69 — Extremidade posterior de fêmea adulta, vista lateral (alótipo n.º 23 279 b).

Figuras na mesma escala.


66
67
68
69
0,2 mm

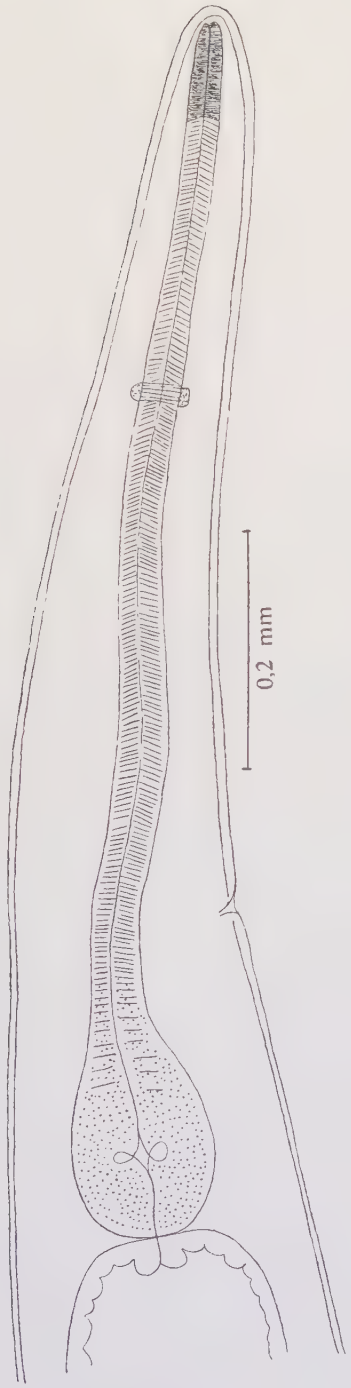
ESTAMPA 21

Megalobatrachonema nipponicum Yamaguti, 1941

Figura 70 — Extremidade anterior de fêmea, vista lateral.

Figura 71 — Extremidade posterior de fêmea, vista lateral.

Figuras segundo Yamaguti, 1941. Freitas cop.

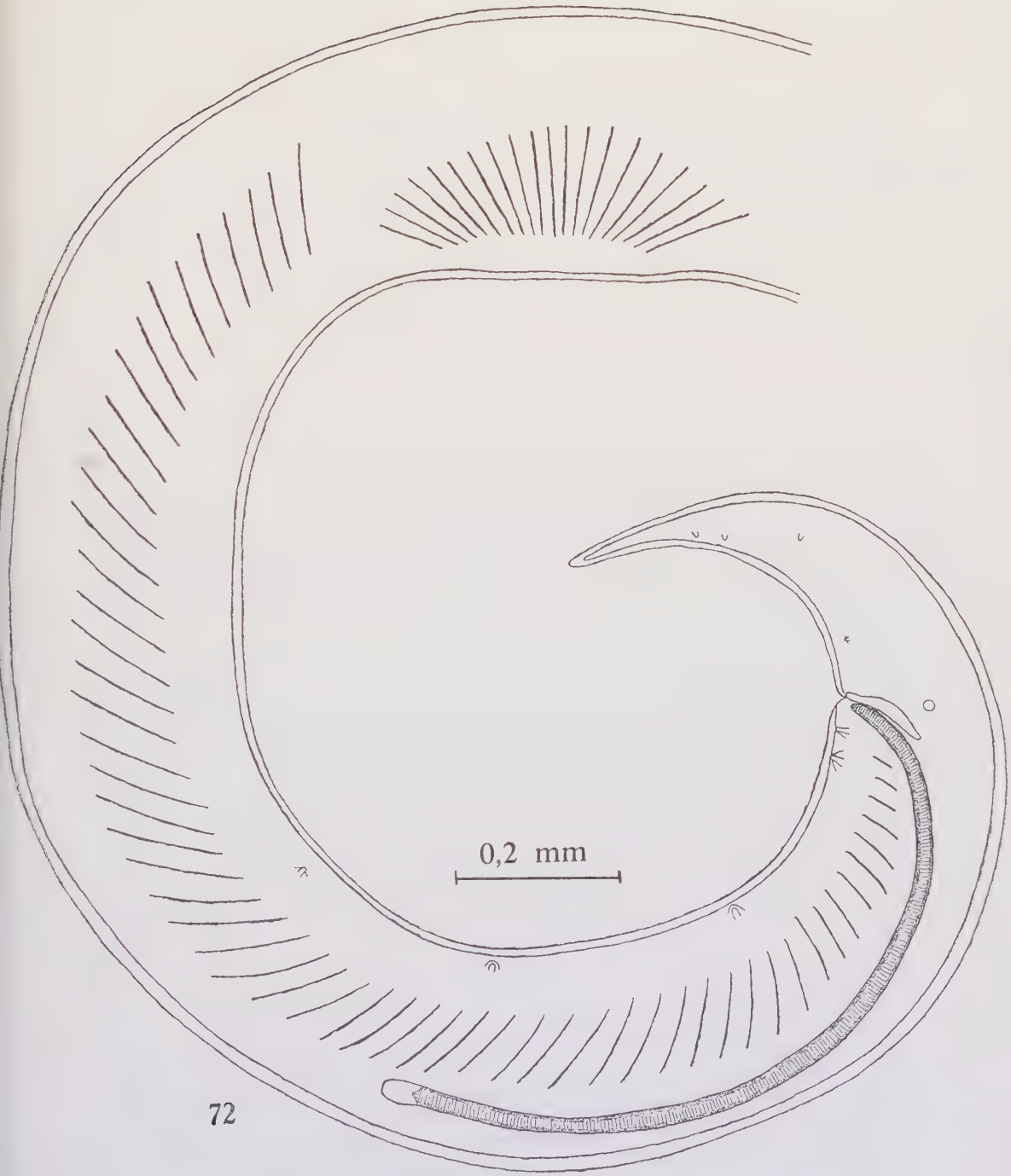


70

71

ESTAMPA 22

Figura 72 — Extremidade posterior do macho de *Megalobatrachonema nipponicum* Yamaguti, 1941, vista lateral. Segundo Yamaguti, 1941. Freitas cop.


0,2 mm

Sôbre o orgão glandular do aparelho copulador do macho de Prodenia ornithogalli Gn. (Lepidoptera, Noctuidae).*

Rudolf Barth

Instituto Oswaldo Cruz

No material, colhido na Ilha de Trindade (20º 30' sul; 29º 19' oeste), em agôsto de 1957, foi encontrado com freqüência um noctuídeo do gênero *Prodenia,* cujos machos e fêmeas possuem órgãos glandulares diferentes em relação aos dois sexos e, que representam importante interêsse para os nossos conhecimentos de anatomia e, especialmente, histologia das glândulas cutâneas dos insetos. A glândula atrativa da fêmea está situada entre os oitavo e nono segmentos abdominais, em forma de uma grosseira camada de células glandulares, na hipoderme da membrana intersegmental. Além desta, a fêmea possui uma outra glândula, localizada na entrada da vagina. Suas secreções, provàvelmente, servem para colar sôbre a postura os pêlos pretos que estão acumulados em um grande e denso pincel terminal do abdômen, afim de proteger os ovos. Estas duas glândulas da fêmea já foram descritas (Rev. Brasil. Entom., São Paulo; em prelo). No trabalho, apresentado em seguida, analisa-se a glândula odorífera masculina, situada nos harpagones do aparelho copulador. Êste órgão é, sem dúvidas, interessante pela sua anatomia e localização, mas ainda mais, histològicamente, pelo tamanho das células glandulares e inserção das cerdas condutoras e evaporadoras. O seu estudo amplia nossos conhecimentos sôbre a estrutura, histologia e funcionamento dêste tipo de órgãos ainda pouco conhecidos. É, especialmente, a citologia da célula secretora, pelo seu tamanho e sua estrutura, que oferece aspectos que permitem conclusões sôbre a função de células glandulares em geral.

A classificação da espécie não foi fácil de ser conseguida em virtude de algumas variações da amostra e ainda da coloração das asas, mas todavia, trata-se, provàvelmente, da espécie *ornithogalli* Gn. (fig. 1). Esta é conhecida do sul dos Estados Unidos e de Costa Rica, bem como de vários lugares do Brasil. As lagartas, alimentando-se de várias plantas cultivadas, foram com estas espalhadas em uma área maior, chegando

* Trabalho realizado sob os auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas. Recebido para publicação em 14-8-1958.

assim à ilha, transportada pelos mantimentos dos destacamentos militares, durante os dois últimos conflitos bélicos mundiais.

Não quero deixar de agradecer à Marinha do Brasil, especialmente, ao Diretor do Departamento de Hidrografia e Navegação, Almirante Jorge da Silva Leite, e ao Vice-diretor, Comandante CMG Levi Pena Aarão Rei, pela gentileza com que me possibilitaram a viagem para a Ilha de Trindade, extensivo também ao comandante do NE "Almirante Saldanha", CMG José Santos de Saldanha da Gama, e sua oficialidade pela recepção amigável a bordo dêste navio, transformado em um laboratório oceanográfico, e, servindo dentro do programa das contribuições do Brasil para o Ano Geofísico Internacional.

CARACTERIZAÇÃO DO ÓRGÃO GLANDULAR

O órgão glandular em estudo encontra-se exclusivamente no macho. Pela localização e estrutura é considerado como sendo um órgão odorífero que produz secreções, cujo ponto de ebulição é tão baixo que, em

Fig. 1 — Macho de *Prodenia ornithogalli* Gn.
Fig. 1 — Maennchen von *Prodenia ornithogalli* Gn.

temperaturas ambiente, a substância, sòmente, existe em estado gasoso. A provável função da secreção é de estimular, atuando, na ocasião antes da cópula, sôbre a fêmea em forma de afrodisíaco. Para o nosso olfato, pouco sensível, a substância não é perceptível.

Trata-se de uma grande área glandular, larga e comprida, situada no lado externo de cada harpago. O órgão possui um tufo, bem fechado, composto de alguns milhares de cerdas compridas. Estas inserem-se entre as células glandulares, formando um conjunto volumoso e, incluindo as cerdas excretoras das células produtoras. Esta formação

preenche todo o espaço da câmara genital entre sua parede e os lados externos dos harpagones. Em estado de repouso êste feltro constituído de pêlos e cerdas, está situado na cavidade do nono segmento. Ao entrar em função, no momento de abrir o aparelho copulador, o órgão evaporador entra em contacto com o ar livre e a secreção aromática evapora, espalhando-se no ar. O aparelho, em estado de repouso, é bem protegido, pois a câmara genital é fechada e a sua abertura terminal, além

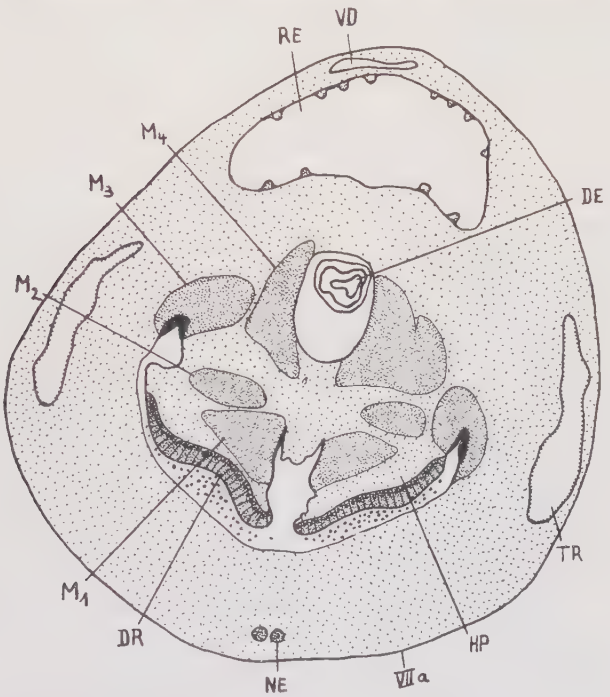


Fig. 2 — Esquema de corte transversal do sétimo segmento abdominal com as partes dos hapagones
Fig. 2 — Schema eines Querschnittes durch das 7. Abdominalsegment mit Teilen der Harpagonen.

de ser muito reduzida, possui várias fileiras de pêlos e escamas compridas, densamente colocadas, e, que se inclinam, umas sôbre as outras, no orifício.

OBSERVAÇÕES ANATÔMICAS

A câmara genital penetra, profundamente, na parte terminal do abdômen, atingindo a altura do limite entre os sexto e sétimo segmentos abdominais. Aí nascem os harpagones, formados por um dobramento das partes laterais do teto da câmara genital. As paredes, na base dêstes componentes do aparelho copulador, são membranosas, com excessão dos dois ângulos da sua inserção, que possuem uma cutícula grossa como ponto de apoio do *musculus protractor harpagonis* (no lado externo) e do *musculus abductor harpagonis* (no lado interno) (fig. 2).

Em direção a sua extremidade, o hargago diminui de largura até chegar às suas dimensões definitivas (fig. 3). No seu interior encontra-se o *musculus abductor harpagonis*. Na direção apical, na altura onde termina a inserção dêste músculo, o harpago torna-se estreita em forma de uma fôlha (figs. 4 a 6).

No lado externo da parte basal do harpago, estende-se uma área glandular, circundada por uma dobra da parede do harpago, sendo, assim, esta superfície da região glandular mais elevada do que as outras partes do órgão (fig. 3). A glândula representa um epitélio simples composta de células hipodérmicas modificadas. Entre as regiões cuticulares das

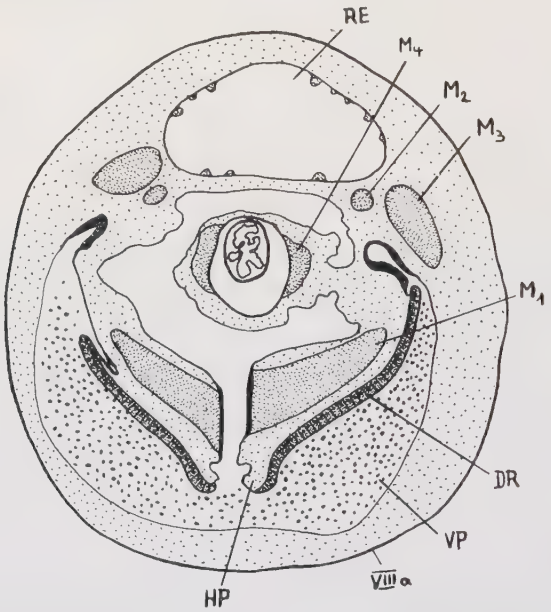


Fig. 3 — Esquema de corte transversal do oitavo segmento abdominal com a área glandular e o pincel distribuidor

Fig. 3 — Schema eines Querschnittes durch das 8. Abdominalsegment mit Druesenfelder und Verteilerpinsel.

células glandulares, das quais cada uma possui uma cerda odorífera comprida, encontram-se numerosas inserções de cerdas muito compridas e de aspecto característico, sendo, doravante, estas chamadas como cerdas distribuidoras. Cada uma destas últimas, insere-se numa saliência isolada, estando agrupadas em número de 6 a 10, em redor da inserção de uma cerda odorífera. A área glandular começa imediatamente, atrás do plano de inserção do harpago, estendendo-se no sentido distal, sôbre o quarto basal do comprimento do mesmo, atingindo, quase a terminação da inserção larga do *musculus abductor harpagonis*. Até esta altura, o harpago possui ainda uma luz consideràvelmente ampla (fig. 3), possibilitando a hemolinfa penetrar e alimentar as grandes células glandulares; imediatamente após a área glandular, o harpago tor-

na-se cada vez mais estreito (fig. 4) ocasionando o desaparecimento de sua cavidade quase por completo (fig. 5).

As cerdas odoríferas e distribuidoras preenchem todo o espaço que se forma entre os harpagones e a parede da cámara genital, de maneira que se observa de cada lado um feltro compacto de pêlos e cerdas de dois tipos diferentes. Tôdas as duas formas de cerdas, correspondendo à localização das suas inserções, misturam-se numa forma mais ou menos regular, de maneira que em corte transversal, o número das cerdas odoríferas está relacionado ao das cerdas distribuidoras, na proporção de 1:8 (fig. 3). Esta composição regular (fig. 3) muda o seu aspecto,

Fifg 4 — Corte transversal do pincel distribuidor no interior da câmara genital, situado na altura da dilatação escamiforme da cerda distribuidora.

Fig. 4 — Querschnitt durch den Verteilerpinsel im Inneren der Genitalkammer in der Hoehne der schuppenartigen Erweiterung der Verteilerborste.

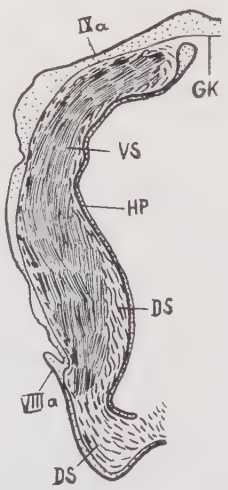


Fig. 5 — Corte transversal do pincel distribuidor no interior da câmera genital na altura do oitavo segmento abdominal

Fig. 5 — Querschnitt durch den Verteilerpinsel im Inneren der Genitalkammer in der Hoehe des 8. Abdominalsegments.

aproximadamente na altura da terminação distal da área glandular. Nesta região (fig. 4, VS + DS), as duas formas de cerdas começam a separar-se, pois, as cerdas odoríferas vão se concentrando na parte externa do feltro, e as cerdas distribuidoras no centro e na parte interna do mesmo.

A forma das cerdas muda o seu aspecto, e a sua parte apical apresenta-se em forma de escama (figs. 7 e 8). Apesar dêste alongamento extenso não podemos chamá-las de escamas verdadeiras e, considerando à sua estrutura mais fina, propomos para estas, e outras formações semelhantes, observadas em outros insetos, o nome "cerda-escamas", como

uma designação provisória, para evitarmos dúvidas, ao dividirmos os anexos cuticulares dos insetos em diferentes categorias. Nas figuras 7 e 8 representamos em cortes transversais, várias alturas de cerdas odoríferas (fig. 7) e de cerdas distribuidoras. Na parte basal, o corte transversal é completamente redondo; a parede é forte e as estrias longitudinais da superfície da cerda possuem apenas pouca distância entre si. Na zona de transição entre o pedúnculo redondo e a parte alongada, o corte transversal torna-se mais e mais oval, pois o eixo maior aumenta e o menor diminui ràpidamente. Nota-se uma diferença no prosseguimento da formação dos dois tipos das "cerdas-escamas" pois, o achatamento da cerda odorífera efetua-se de uma maneira regular (fig. 7), enquanto que, na cerda distribuidora, êste processo é irregular formando-se na zona de transição, em cortes transversais, figuras poliangulares (fig. 8). As trabéculas no interior do pedúnculo não atravessam a sua luz em sentido radial, mas sim encontram-se, apenas, na periferia; na região oval, entretanto, elas ligam as duas lamelas. Apesar da introdução de novas estrias longitudinais sôbre a superfície alargada, as dis-

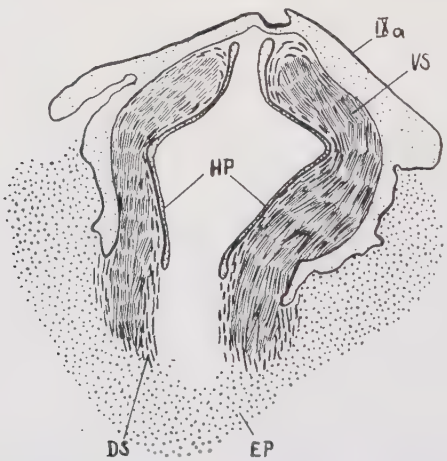


Fig. 6 — Corte transversal do pincel distribuidor no interior da câmara genital na extremidade do nono segmento abdominal (câmara genital semi-aberta)
Fig. 6 — Querschnitt durch den Verteilerpinsel im Inneren der Genitalkammer am Ende des 9. Abdominalsegments (Genitalkammer halbgeoeffnet).

tâncias entre estas estruturas aumentam cada vez mais em direção à ponta. A área escamiforme possui assim estrias longitudinais verdadeiras, tanto no lado superior quanto no inferior. Com isto a "cerda-escama" se diferencia bem da escama normal, cujo lado superior tem estrias longitudinais verdadeiras, enquanto que sua lamela inferior é formada por uma membrana lisa que, ocasionalmente, correspondendo às necessidades mecânicas, possui dobras longitudinais ou diagonais, mas nunca estrias verdadeiras.

As "cerdas-escamas" encontram-se freqüentemente em Lepidópteros e foram observadas por nós, nos pinceis distribuidores, em órgãos odoríferos e outras formações de várias espécies.

As partes escamiformes das cerdas odoríferas, na metade apical do feltro, formam uma camada, mais ou menos fechada, apresentando-se como um revestimento externo (figs. 5 e 6), e incluindo as cerdas distribuidoras, cujas partes alargadas se orientam em posição paralelas entre si. Esta localização evita que as cerdas distribuidoras aderem à

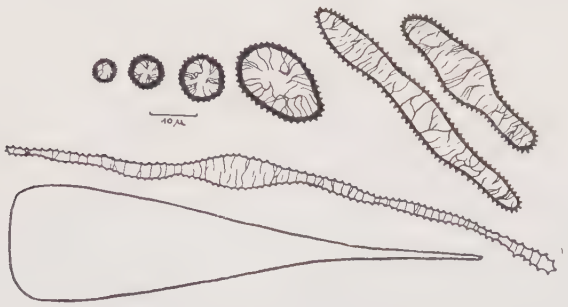


Fig. 7 — Série de cortes transversais de uma cerda odorífera em várias alturas.
Fig. 7 — Serie von Querschnitten durch eine Duftborste in verschiedenen Hoehen.

parede da câmara genital e ao lado externo do harpago. O perigo da adesão surge pelas secreções que, das células produtoras, passa através das cerdas odoríferas, para as distribuidoras preenchendo a luz destas e os espaços entre as partes escamiformes. O efeito capilar do conjunto das cerdas distribuidoras, especialmente, na sua parte apical, é muito forte, pelo menos, muito maior do que nas cerdas odoríferas, que não

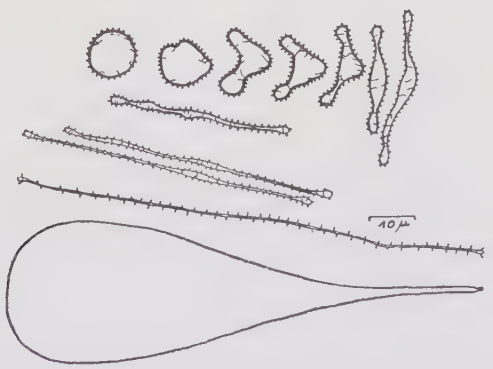


Fig. 8 — Série de cortes transversais de uma cerda distribuidora em várias alturas
Fig. 8 — Serie von Querschnitten durch eine Verteilerborste in verschiedenen Hoehen.

formam u'a massa fechada como nas cerdas distribuidoras (figs. 5 e 6). O efeito isolante das escamas, localizadas em forma de um revestimento, já foi descrito no órgão odorífero de *Margaronia hyalinata* (vide Barth, 1954, Rev. Brasil. Biol., 14: 323-332) e, também observado em várias espécies de Lepidópteros, especialmente da família de *Pyraustidae*.

OBSERVAÇÕES HISTOLÓGICAS

As células glandulares são muito volumosas (fig. 9) atingindo um comprimento total de 350 μ e uma largura de 200 μ. O corpo celular é subdividido em três zonas:

a) Na parte basal encontra-se uma camada estreita de protoplasma lamelar (Ergastoplasma) (EG), cujos elementos se orientam perpendicular à membrana basal (BM), sendo esta, aliás, muito grossa.

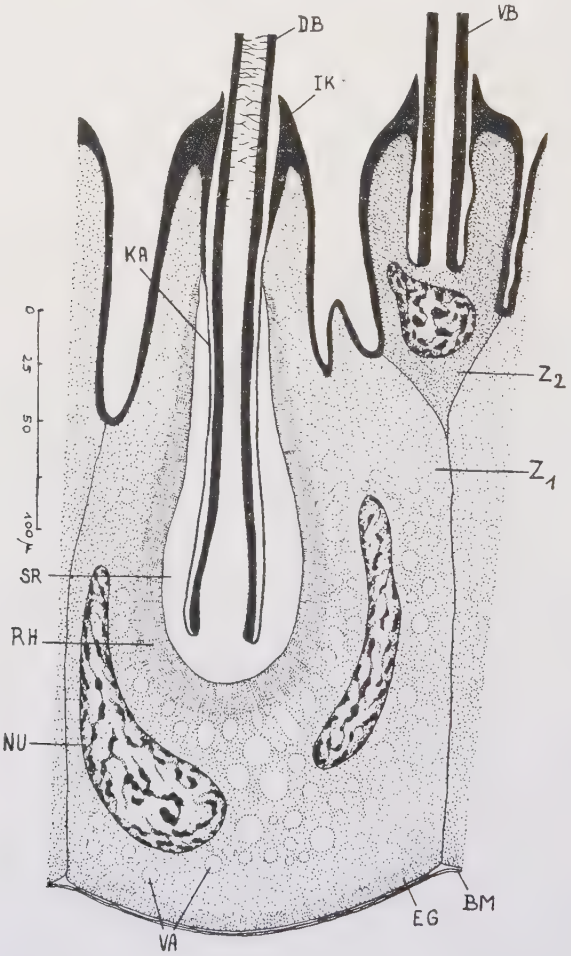


Fig. 9 — Corte longitudinal de uma célula glandular com a inserção da cerda odorífera
Fig. 9 — Laengschnitt durch eine Druesenzelle mit Insertion der Duftborste. Rechts Insertion der Verteilerborste.

b) A maior porção da célula compõe-se de citoplasma típico (homogêneo) incluindo pequenas granulações espalhadas, uniformemente, sôbre tôdas as partes. Encontram-se dentro do citoplasma numerosos va-

cúolos, maiores e menores, cujo conteúdo, depois de ser fixado pelo soluto alcoólico segundo Bouin, não é conservado.

c) Circundando o reservatório das secreções, encontra-se um rabdório, que se compõe de fibrilas paralelas entre si, em posição perpendicular à película da citada cavidade.

O núcleo é curvado, em forma de "U", muito volumoso e extremamente polienérgide.

A inserção das cerdas odoríferas forma um cone alto com paredes muito inclinadas. Na extremidade dêste, a cutícula é muito grossa (fig. 9). Nesta região o integumento invagina em forma de um comprido canal de inserção, cuja parede logo depois da penetração na célula glandular, torna-se membranosa, penetrando profundamente, no sentido do eixo longitudinal da célula glandular, no corpo protoplasmático e, atingindo o centro dêste. Nesta altura, o canal passa para a borda basal do pedúnculo da cerda, que, por sua vez, percorre todo o canal membranoso, em sentido contrário, para, finalmente, sair da abertura apical do cone de inserção. A posição da cerda é imóvel e fixa em virtude do comprido canal e, ainda mais, pelo reforçamento da cutícula apical do citado cone (fig. 9).

Em redor do canal encontra-se o reservatório das secreções. A sua forma é comprida com uma dilatação na base, na qual está situada a abertura do pedúnculo da cerda odorífera (fig. 9, SR). A película, que reveste esta cavidade, é de natureza protoplasmática, não deixando o menor sinal da presença de quitina.

Agrupadas em redor de cada inserção de uma cerda odorífera, colocam-se os cones de inserções das cerdas distribuidoras, em número variável (entre 6 e 10). Os cones são, apenas, pouco menores do que os das cerdas excretoras. O canal de inserção mostra a mesma construção como o nas células glandulares sendo, aliás, consideràvelmente, mais curto. A inserção da cerda, devido ao reforçamento da abertura do cone, também é imóvel. A cerda penetra na célula materna até seu centro. O protoplasma desta é homogênea e condensado. Seu núcleo, além de ser relativamente volumoso, dá o aspecto de um núcleo hipodérmico inativado. As células tormogêneas, dos dois tipos das cerdas, não foram observadas.

FUNÇÃO

Em estado de repouso, todo o órgão odorífero fica escondido no interior da grande câmara genital, cuja abertura terminal é fechada por um conjunto de fileiras de escamas e pêlos, de maneira que, o órgão não perde as secreções voláteis por uma ventilação eventual. Durante a atividade do macho, pouco antes da cópula, a câmara genital abre-se e o aparelho copulador é protraído, e seus componentes divergem entre si, em virtude do forte afluxo de hemolinfa aos anexos terminais do corpo. Com êste movimento, também, os dois grupos de feltro das cerdas odoríferas e distribuidoras, que se inserem nos lados externos dos har-

pagones, entram em contacto com o ar livre. Agora a secreção que, durante o estado de repouso, estava contida no feltro, pode evaporar. A saída dos feltros, adesivos em virtude das secreções existente nêles, é facilitada pelo "tapetum" formado pelas partes apicais escamiformes das cerdas odoríferas, que incluem as cerdas distribuidoras, e evitam que estas se colem às paredes da câmara genital.

RESUMO

Descreve-se o órgão odorífero do macho do noctuídeo *Prodenia ornithogalli* Gn. Quando em repouso, o órgão está situado no interior da câmara genital, abrindo-se porém durante a atividade do aparelho copulador. Compõe-se de uma área glandular, colocada no lado externo da parte basal do harpago, e de um pincel distribuidor cujas cerdas se inserem entre as cerdas odoríferas. Às partes apicais das duas formas de cerdas são alargadas por meio de um crescimento unilateral das mesmas. Chamam-se estas formas de "Cerdas-escamas" a fim de não confundi-las com escamas verdadeiras.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird das maennliche Duftorgan der Noctuide *Prodenia ornithogalli* Gn. beschrieben. Das Organ liegt in der Ruhestellung in der Genitalkammer verborgen und wird beim Oeffnen des Copulationsapparates ausgebreitet. Es besteht aus einem Duftfeld auf der Aussenseite des basalen Teils des Harpagos und aus einem Verteilerpinsel, dessen Borsten zwischen den Duftborsten inserieren. Die beiden Borstenarten tragen schuppenartige Apikalteile, die durch Abflachung der Borste entstanden sind. Zum Unterschied zu echten Schuppen werden diese Formen "Schuppenborsten" genannt.

ABREVIAÇÕES NAS FIGURAS

BM — Membrana basal
DB — "Cerda-escama" odorífera
DE — *ductus ejaculatorius*
DR — Área glandular
DS — "Cerda-escama" odorífera
EG — Ergastoplasma
EP — Escamas protetoras externas
GK — Câmara genital
HP — Harpago
IK — Cone de inserção
KA — Canal de inserção
M_1 — *Musculus abductor harpagonis*
M_2 — *Musculus adductor harpagonis*
M_3 — *Musculus protractor harpagonis*
M_4 — *Musculus protractor aedeagi*
NE — Nervo
NU — Núcleo da célula glandular
RE — Reto
RH — Rabdório
SR — Reservatório
TR — Traquéia
VA — Vacúolo
VB — "Cerda-escama" distribuidora
VD — Vaso dorsal
VP — Pincel distribuidor
VS — "Cerda-escama"
Z_1 — Célula glandular
Z_2 — Célula tricogênea
VII a IX — sétimo a nono segmentos abdominais.

Recentes técnicas para coloração de protozoários em tecidos

pelo

Dr. R. Pimenta de Mello*, G. Santa Rosa e **P. F. de Almeida Lopes****

A identificação de protozários em tecidos, apresenta alguns problemas técnicos, pois ao lado de uma perfeita coloração do parasito, necessário se torna também, uma coloração que nos permita o reconhecimento dos elementos celulares dos tecidos parasitados.

Os métodos compreendendo exclusivamente o emprêgo da hematoxilina férrica, apesar de tornar possível uma perfeita e completa identificação dos protozoários, não nos possibilita todavia, um estudo citológico acurado do tecido onde êles se localizam. Em virtude dêste facto, diversos métodos foram recentemente introduzidos na prática corrente, contando-se entre os mais importantes, os seguintes:

a) Wheatley (1) empregou o método do tricromo de Gomori, que segundo nossa opinião, apesar de corar intensamente as hemáticas fagocitadas pela E. histolytica, o que sem dúvida facilita a procura, não satisfaz inteiramente porque a coloração nuclear é deficiente;

b) Gridley (2) utilisou a técnica preconizada anteriormente por Michael e Markell (3), consistindo na aplicação dos corantes usados por Papanicolaou para o estudo da citologia exfoliativa. Se, em esfregaços, esta técnica apresenta bons resultados, em tecidos é todavia deficiente;

c) Goldman (4,5) empregou uma simples solução de hematoxilina férrica para a coloração de protozoários em esfregaços de fezes. A morfologia dêstes é perfeita apreciada, porém o tecido circunvizinho é pouco evidenciado.

d) Lillie (6) recomenda a técnica de Goldman em preparações histológicas, utilisando para êsse fim uma complicada e demorada hematoxilina férrica, seguida do método de Van Gieson para coloração de fundo.

* Divisão de Patologia do Instituto Oswaldo Cruz.
** Bolsistas da Divisão de Patologia do Instituto Oswaldo Cruz.
Recebido para publicação em 28 de agôsto de 1958.

Métodos:

Empregamos essencialmente duas técnicas, que nos deram magníficos resultados, não só sob o ponto de vista de grande diferenciação histológica, como também pela coloração perfeita de três espécies de protozoários com os quais tivemos oportunidade de experimentar.

Método 1

Fixação: Zenker, Zenker-formol ou formol.
Coloração nuclear:

Solução de hematoxilina férrica segundo GOLDMAN (1947)

Solução *A*
Hematoxilina a 1% em álcool a 95%

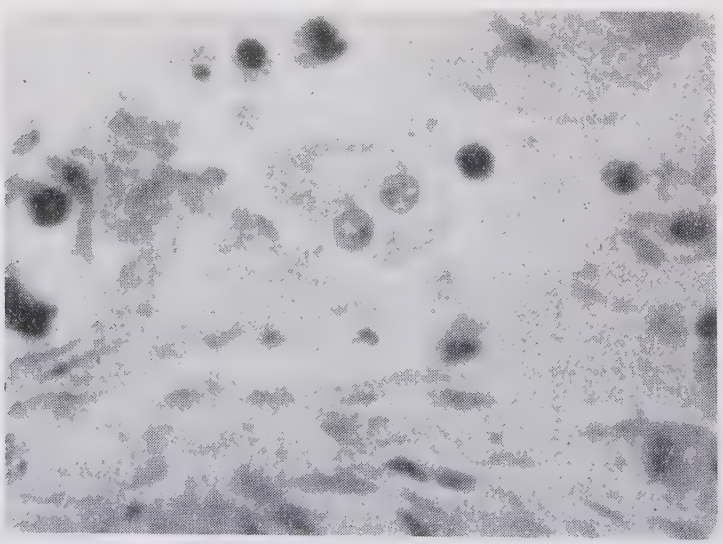
Solução *B*

Sulfato férrico amoniacal	4.0	g
Ácido acético glacial	1.0	ml
Ácido sulfúrico concentrado	0.12	ml
Água distilada	100.0	ml

Misturar partes iguais de solução *A* e solução *B*. Deixar em repouso durante uma noite. Filtrar. A solução assim preparada poderá ser usada durante seis dias.

Coloração de fundo e histológica:

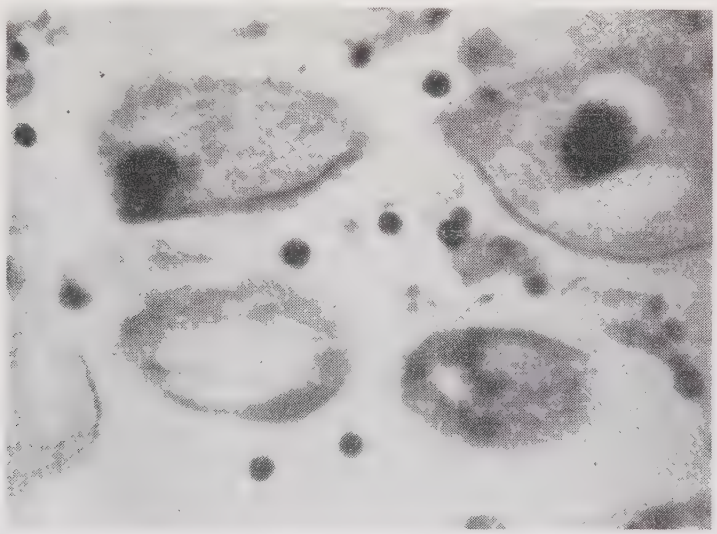
Fucsina ácida a 1%	5.0	ml
Ácido pícrico sol. saturada aquosa	/ 95,0	ml
Ácido clorídico concentrado	0.25	ml



Técnica:

Corar na solução nuclear durante 3 a 5 minutos. Lavar em seguida em água corrente durante cinco minutos e corar finalmente na solução para coloração de fundo e histológica durante cinco minutos. Desidratar e fechar. Os núcleos se apresentam em cinzento escuro ou negro, dependendo do tempo de coloração, sendo de notar-se a fina estrutura da rêde cromatínica nuclear. O tecido muscular cora-se em amarelo e o colágeno em vermelho.

O emprêgo dêste método deu-nos magníficos resultados em casos de E. histolytica (fig. 1) não se apresentando todavia muito brilhante na coloração do Balantidium coli e na Giardia intestinalis.



Método 2

Fixação: a mesma da técnica anterior.
Coloração nuclear:

A mesma técnica do método 1.

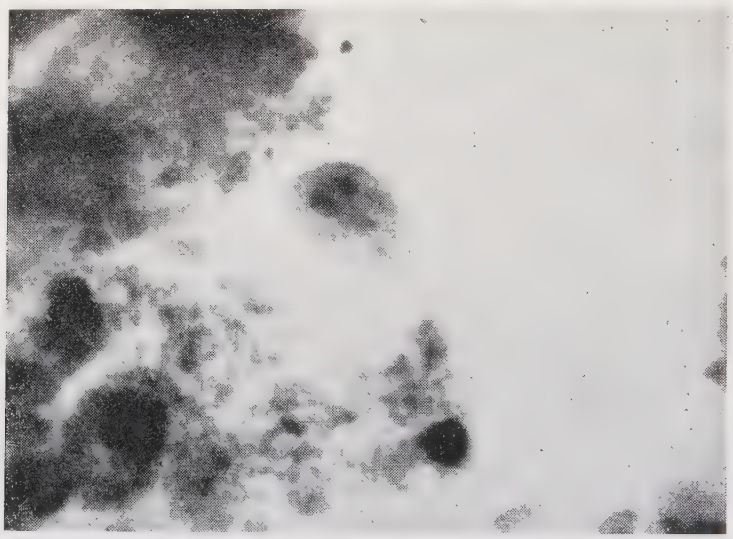
Coloração histológica:

Tricromo de Gomori com a seguinte fórmula:

Chromotrope 2R	0.6 g
Light green SF ou Fast green F.C.F.	0.3 g
Ácido fosfotúngstico	0.7 g
Ácido acético glacial	1.0 ml
Água distilada	100.0 ml

Diluimos na proporção de 1 : 2 com água distilada e coramos durante 10 minutos. Desidratar e fechar. Os núcleos coram-se em pardo escuro, hemátias em laranja (muito útil pela possibilidade de identificar indiretamente a E. histolytica), tecido muscular em vermelho e colágeno em verde.

Esta técnica, mostrou-se muito eficiente para a coloração do Balantidium coli (fig. 2). Quanto à Giardia intestinalis os melhores resultados foram conseguidos por uma coloração durante 24 horas com o tricromo de Gomori (fig. 3).



SUMÁRIO

Os autores depois de apresentarem alguns métodos recentemente descritos para a coloração de protozoários intestinais em tecidos, apresentam dois métodos que pela simplicidade e rapidez que apresentam, são sem dúvida superiores a todos anteriormente utilizados.

SUMMARY

The authors have described two new methods for the identification of intestinal protozoa in tissue. The first method is based on iron hematoxilin of Goldman. The second one is based on the Gomori's Trichrome. The first method has a great advantage over the other methods because of the fast coloration of the slides.

BIBLIOGRAFIA

1 — Wheatley, W. B. — A rapid staining precedure for intestinal amoebae and flagellates. Am. J. Clin. Path. 21, 990, 1951.

2 — Gridley, M. F. — Stain for Endamoeba histolytica in tissue sections. Am. J. Clin. Path. 24, 243, 1954.

3 — Michael, F. & Markell, E. K. — Modified Papanicolaou stain for amebae. Am. J. Clin. Path. 19, 91, 1949.

4,5 — Goldman, M. — A single solution iron-hematoxilin stain for intestinal protozoa. Stain tech. 24, 57, 1949.

6 — Lillie, R. D. — Histopathologic technic and practical histochemistry. The Blakiston Co. 1954.

Estudos anatômicos e histológicos sôbre a subfamília Triatominae (Heteroptera, Reduviidae)

X. Parte: Espermiohistogênese do Triatoma infestans (*)

Rudolf Barth
Instituto Oswaldo Cruz

(com 87 figuras em 17 estampas)

A. INTRODUÇÃO

Em continuação a quinta parte dos estudos sôbre os Triatomíneos (1) comunicamos, em seguida, os resultados de nossas observações sôbre as células germinativas masculinas, durante a histogênese dos espérmios. No trabalho citado consideramos as modificações, que os espermiogônios primordiais sofrem durante a evolução até o estado dos espermídeos. Na figura 1, tentamos apresentar, de modo muito esquematisado, estas fases evolutivas, bem como a continuação das transformações, que as células germinativas percorrem até chegarem à forma definitiva. Temos de chamar a atenção que, neste desenho, foi encurtado o comprimento total do folícolo em comparação com sua largura e, que o número de cistos foi reduzido quase à metade, especialmente, na região das divisões de multiplicação e de crescimento, bem como na zona dos espermiócitos. Resumiremos, em seguida, as fases da citogênese — neste resumo os números e as letras correspondem os da figura 1:

1. Conjunto das células germinativas primordiais (espermiogônios primordiais)
2. Núcleos das paredes dos cistos
3. Fases de multiplicação dos espermiogônios:
   a) Espermiogônio primordial em divisão
   b) Estádio com 2 espermiogônios secundários
   c) Estádio com 4 espermiogônios secundários
   d) Estádio com 8 espermiogônios secundários
   e) Estádio com 16 espermiogônios secundários

* Trabalho realizado sob os auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas. Recebido para publicação em 1 de setembro de 1958.

f) Estádio com 32 espermiogônios secundários
g) Estádio com 64 espermiogônios secundários
h) Estádio com 128 espermiogônios secundários
i) Estádio com 256 espermiogônios secundários

4. Fase presináptica, com ligeiro crescimento celular
5. Fase de contração:
   a) Emaranhado sináptico
   b) Fios bivalentes do paquíteno, forte crescimento nuclear
6. Fase dos cromosomas difusos, forte crescimento nuclear
7. Profase da primeira divisão de maturação:
   a) Condensação dos cromosomas
   b) Formação de tétrades
   c) Primeira divisão de maturação
8. Segunda divisão de maturação
9. Espermídeos
10. Fases de translações das organelas
11. Fases de alongamento
12. Espérmios maduros, passando para o vaso eferente.

A histogênese dos espérmios começa com as primeiras translações dos componentes celulares do espermídeo (correspondendo ao cisto 9 da figura 1). Tôda a fase de maturação ou histogênese, é subdividida, convencionalmente, em período de translações e de alongamentos. No primeiro verifica-se, no interior da célula, uma migração dos centríolos, mitocôndrios e partes do aparelho de Golgi para, finalmente, êstes componentes chegarem aos seus lugares definitivos, no espérmio maduro. No segundo período estas organelas mudam profundamente o seu aspecto para poderem exercer as funções predestinadas, e para encontrarem espaço adequado na mínima extensão, no interior do espermídeo, no sentido transversal.

B. TÉCNICA

Durante o estudo da citogênese, os métodos convencionais em histologia e citologia satisfizeram as necessidades das observações. Mencionamos, aliás, na publicação citada (1), o efeito desfavorável do ácido acético como componente dos fixadores. Encontramos nas observações histogenéticas numerosos obstáculos, que pudemos evitar, sòmente, por métodos especiais ou adaptados à certas finalidades. A primeira dificuldade é a delicadeza das estruturas e o percorrer das transformações e translações no interior de um espaço muito reduzido, de maneira que, várias estruturas desaparecem em virtude de superposição, caso que empregamos apenas os métodos citados na mencionada publicação. Aproveitando dos vários métodos de fixação, conseguimos suprimir certas estruturas e realçar outras que, pela superposição, ficaram escondidas. Por intermédio de uma diferenciação mais curta ou mais prolongada, pudemos extrair a hemateína em vários graus, de modo que

a organela fica com uma coloração mais intensa do que outros componentes da célula. Não é possível comunicar regras generalizadas deixando, aliás, o escolhe das técnicas à experiência e capacidade do observador. Para o estudo das transformações da cromatina empregamos o método segundo BOUIN-DUBOSCQ-BRASIL; para a fixação do citoplasma e dos seus derivados obtivemos bons resultados pelo fixador segundo HELLY que, sobretudo, conserva os mitocôndrios. Observamos que após a fixação com êste líquido, a massa mitocondrial, nos primeiros estádios dos espermídeos, apresenta em sua estrutura camadas concêntricas (fig. 31), fato êste que, ao meu ver, é provocado por extração parcial de certos componentes desta organela. Os mitocôndrios, depois de fixados segundo HELLY, e corados subseqüentemente com hematoxilina férrica segundo HEIDENHAIN (original), não se tingem em preto, mas sim em amarelo-marron.

Para fixação de mitocôndrios, aparelho de GOLGI, centríolos, fios axiais e restos de fusos, usamos inicialmente o soluto de FLEMMING sem ácido acético. Observamos ainda, uma extração do material de algumas estruturas celulares e, para diminuir a perda de substâncias durante a fixação, trabalhamos depois, exclusivamente com OsO_4 puro e tamponado (p_H 7,25) a 1%, conforme o método de STERN, que segue em baixo (o tampão foi composto pelo colega FIRMINO TÔRRES DE CASTRO, a quem agradeço cordialmente):

Soluto-mãe: Dissolve-se 9,714 g de acetato de sódio (— 3 H_2O) e 14,714 g de "veronal-sódico" em água bidestilada (livre de CO_2) ad 500 ccm. Mistura-se 5 partes do soluto-mãe com 2 partes de um soluto de cloreto de sódio a 8,5% em água bidestilada; é êste líquido que chamamos "soluto base". Para obter um certo p_H adiciona-se a 7 ccm de soluto base "a" ccm n/10 HCl e (18 —a) ccm água bidestilada, conforme a seguinte tabela:

"a"	p_H	*"a"*	p_H	*"a"*	p_H
0,00	9,64	5,00	7,42	11,00	4,33
0,25	9,10	5,50	7,25	12,00	4,13
0,50	8,90	6,00	6,99	13,00	3,88
0,75	8,68	6,50	6,75	14,00	3,62
1,00	8,55	7,00	6,12	15,00	3,20
2,00	8,18	8,00	5,32	16,00	2,62
3,00	7,90	9,00	4,93		
4,00	7,66	10,00	4,66		

Os valores intermediários podemos calcular por interpolação linear. Para a fixação usamos um p_H de 7,25. A duração da fixação é de 90 até 120 minutos, para material com o diâmetro menor de 1,5 até 2,0 mm. Coloração dos cortes com hematoxilina férrica segundo HEIDENHAIN. Podemos obter uma coloração de contraste mais acentuado por uma

modificação do método clássico de HEIDENHAIN: em cortes finos (1 a 2 micra) diminui-se o tempo de exposição no alúme de ferro até 2 ou 3 horas. Depois da coloração em hematoxilina, decora-se os cortes totalmente em alúme de ferro e cora-se, a seguir, novamente em hematoxilina, repetindo êste processo duas ou três vêzes.

Para a análise do flagelo do espérmio, deixamos os espérmios maduros (tirados da vesícula seminalis) 20 horas em água destilada em temperatura de 5º a 7º na geladeira. Conseguimos, assim, desintegrar as fibrilas para depois, no microscópio eletrônico, constatar o número dos mesmos. Aparentemente, os fios *axiais* possuem uma constituição menos estável do que os filamentos mitocondriais, pois na maioria das preparações os axiais desaparecem, sendo os mesmos, sòmente, conservados em espérmios cuja cauda sofreu u'a maceração menos acentuada. Verificamos que o método indicado por WU e MCKENZIE (2), aplicando várias concentrações de NaOH (0,2 — 0,02/n NaOH), acelera ainda mais a maceração, cremos ser a desintegração da cauda em água destilada um método mais suave para espérmios de insetos.

C. TERMINOLOGIA

Neste trabalho usamos a mesma terminologia, que nos serviu na publicação citada (1), pois consideramos esta mais simples e significativa. Em seguida usamos:

em vez de espermatogônios	espermiogônios
em vez de espermatócitos da primeira ordem	espermiócitos
em vez de espermatócitos da segunda ordem	prespermídeos
em vez de espermatídeos	espermídeos
em vez de espermatozóides	espérmios

Em relação à terminologia dos vários componentes do espermídeo — que representa o estádio inicial da histogênese — evitamos o têrmo "Nebenkern" pois em certos trabalhos êste designa o conjunto dos mitocôndrios (3), e em outros os restos dos fusos. O "idiosoma", segundo MEVES (4), é a zona de protoplasma condensado que, em espermiogônios e espermiócitos, inclui o centríolo; outros autores empregam êste têrmo para a parte do aparelho de GOLGI, que depois forma o acrosoma (bibliografia veja no trabalho de OTTE — 5). A fim de excluir certas dúvidas, não usaremos a palavra idiosoma. Sob mitocôndrios compreende-se as estruturas da célula descritas por BENDA; sob o aparelho de GOLGI aquelas introduzidas, na citologia, por GOLGI. Consideramos, conforme esta exposição, como componentes do espermídeo os seguintes elementos que, em virtude de deslocamentos e transformações, formam o espérmio, ou são eliminados do corpo da célula germinativa durante a fase de histogênese:

1. Membrana celular
2. Protoplasma
   a) Citoplasma (incluindo os cromídeos e os microsomas submicroscópicas)
   b) Massa dos restos dos fusos
   c) Aparelho de Golgi
   d) Mitocôndrios
   e) Centríolos

   (b–e: Diferenciações do citoplasma)
3. Núcleo celular com os seus típicos componentes:
   a) Membrana nuclear
   b) Sistema de cromatinas e lininas
   c) Líquido nuclear
   d) (Não foi possível provar a existência de um nucléolo nem em fases ativas, nem em períodos de repouso).

D. FASE DE TRANSLAÇÃO

Na fase dos cromosomas difusos, do espermiócito (fig. 1, cif. 6; fig. 2, MI), os mitocôndrios formam cadeias de grânulos, mais ou menos compridas, que se distribuem igualmente sôbre todo o citoplasma, sempre orientadas no sentido concêntrico em relação ao núcleo. No fim desta fase, as fileiras de mitocôndrios aproximam-se à membrana nuclear formando uma zona esférica em redor do núcleo (fig. 3). Durante a fase de formação dos tétrades (diacínese) esta região sofre uma condensação ainda mais forçada (fig. 4, MI) até, no momento da desintegração do corpo heteropicnótico (composto dos autosomas A, B e C e dos heterocromosomas x e y), incluir o núcleo em forma de um manto compacto (figs. 5 e 6, MI).

Na fase terminal do estádio dos cromosomas difusos, o aparelho de Golgi é desintegrado, apresentando-se, então, em forma de numerosas partículas (figs. 2 e 3, GO), espalhadas irregularmente sôbre o espermiócito. Estas partes são fragmentos da rêde de substância de Golgi que, durante a fase de crescimento do espermiócito, inclui o núcleo numa maneira mais ou menos perfeita. Parece que, no início da fase do forte crescimento, a rêde é completa, mas, em virtude do rápido aumento do volume nuclear ela se desintegra e a sua matéria condensa-se em várias partículas de tamanho, aproximadamente igual, arredondando-se em forma de placas ovais. O material periférico destas tinge-se com mais intensidade do que o do centro; assim a placa, aparentemente, forma uma borda saliente, mas na realidade, entretanto, a grossura da placa, em tôdas as partes, é igual. A condensação da substância basófila na periferia da placa, visto oblìquamente, faz o observador crer que se trate de duas partes ligadas, ìntimamente, uma à outra; é esta observação um efeito óptico que realmente não existe. Durante a formação dos tétrades, as porções do aparelho de Golgi con-

centram-se num plano anular em redor do núcleo, que corresponde ao futuro equador da primeira divisão de maturação (figs. 5 e 6, GO); observação esta que é provada pela posição dos dois centríolos (figs. 5 e 6, CO).

Durante o período de crescimento do espermiócito, e no estádio dos cromosomas difusos, o centríolo é um grânulo simples e redondo, tendo menos de um micron de diâmetro. Êste difere-se do corpo cromatóide, freqüentemente observado (de função desconhecida), pelo seu tamanho reduzido, bem como pela zona citoplasmática que circunda o centríolo em forma de uma esfera e, que se apresenta, num corte, como um halo ou uma aréola. Por meio dêstes caracteres consegue-se, com certa facilidade, localizar o centríolo. Esta citada porção do citoplasma (aréola), que inclui o centríolo, apresenta-se, nas diferentes fases de transformações celulares, em vários aspectos: No período dos cromosomas difusos (fig. 2, CO) a aréola é condensada e tinge-se intensamente com hemateina, enquanto que, no início da diacínese (fig. 3, CO) ela se apresenta de coloração fraca, dando a impressão de se tratar de um vacúolo. Ao terminar a diacínese a aréola novamente aparece como u'a massa compacta (fig. 5, CO). Nesta altura o centríolo já se dividiu em dois grânulos iguais, que se localizam em dois pólos opostos do núcleo. A divisão do centríolo e a translação dos seus fragmentos, aparentemente, estão relacionadas à modificação qualitativa da aréola. Pela translação, a polaridade do núcleo da primeira divisão de maturação, é definitivamente fixada. As partes do aparelho de Golgi e as fileiras dos mitocôndrios acumulam-se no plano equatorial, fixado pela posição dos centríolos (fig. 6).

Em seguida, o espermiócito sofre as duas divisões de maturação (figs. 7, 8 e 9), já descritas no trabalho citado (1). Sem deixar perceber qualquer mecanismo especial, os mitocôndrios são distribuídos, por ocasião da divisão do corpo protoplasmático, em porções iguais para os dois prespermídeos e, durante a segunda anafase, para os quatro espermídeos. Também os fragmentos do aparelho de Golgi passam, nas mesmas fases, para os prespermídeos e espermídeos. Não foi possível observar os pormenores dêste processo. No espermiócito encontram-se sempre numerosas placas do aparelho de Golgi; o número é aproximadamente 10 mas, aparentemente, não é constante. O espermídeo, depois da segunda telofase de maturação, possui sempre apenas um corpúsculo da substância de Golgi. Êste fato leva à presunção de que não se trate de uma simples distribuição dos fragmentos para as células-filhas, pois a célula materna possui sempre, pelo menos, mais do que quatro placas desta substância. Não observamos a eliminação de uma parte do aparelho de Golgi nestes estádios; mas certos aspectos dos perspermídeos nos dão a impressão, que permite com certas restrições concluir, que durante a anafase e telofase (não nas metafases) há uma conjugação de algumas placas de substância de Golgi, diminuição esta que, finalmente, reduz o nú-

mero de aproximadamente 10 à sòmente 4. Temos de acrescentar, entretanto que, também, em cortes finos, não conseguimos obter bastante aspectos positivos; assim a resposta à questão em aprêço só pode ser dada como opinião a favor da conjugação mencionada. O centríolo sofre cada vez uma partição, antes da primeira divisão de maturação, no estádio da diacínese, assim como na interfase. Além disso há mais uma divisão no fim da última telofase (fig. 14). *Êste grânulo duplo passa, inalteradamente, para o espermídeo*. Esta passagem, por muito tempo, ficou absolutamente fora de observação, pois o centríolo duplo da última telofase sempre desapareceu no momento da torsão dos núcleos recémformados do novo espermídeo. O centríolo foi encontrado, sòmente depois da regeneração completa da célula, de modo que não foi possível provar a identidade dos centríolos dos espermídeos, com os da última telofase. Sòmente em cortes com uma grossura de menos do que um micron, corados com hemotoxilina férrica e fortemente diferenciados, conseguimos encontrar os centríolos no interior da massa dos restos de fusos. Êstes últimos formam, depois da divisão do prespermídeo em espermídeos, u'a massa condensada (corpo dos restos dos fusos). Em virtude da extração forçada da laca de hemateina pelo alúme de ferro (1%), esta condensação protoplasmática descora-se, de tal maneira que permite, observar o centríolo duplo, que possui uma afinidade para o corante, um pouco mais acentuada do que a massa dos restos dos fusos. Os centríolos sempre estão situados no interior da citada massa, circundados por uma estreita área mais transparente, a aréola (fig. 15). Neste estádio o núcleo já avançou na sua regeneração já tendo saído do conjunto dos fusos, em virtude da torsão já conhecida. Em cortes finos constatamos que a torsão dos núcleos tem início no mesmo momento em que se forma a membrana do novo núcleo. Até o ponto culminante da telofase a massa dos cromosomas fica ligada ao pólo da figura dos fusos; pela nova membrana nuclear ela perde êste contato e o núcleo, que em virtude da desintegração da cromatina e embebição por uma certa quantidade de líquidos, é mecânicamente forçado a sair do complexo restante dos fusos. O centríolo duplo, entretanto, permanece em contato com os fusos e, durante o processo subseqüente de contração e arredondamento, sofre uma inclusão no interior desta condensação transitória do protoplasma (fig. 16, CO). Mais tarde o corpo dos restos dos fusos é assimilado pelo citoplasma, desaparecendo, e deixando os centríolos isolados no seu lugar. Encontramos o grânulo duplo do centríolo nos novos espermídeos, que ainda não terminaram a separação dos seus corpos protoplasmáticos, depois da última telofase (fig. 15, CO).

Depois da separação dos dois corpos protoplasmáticos, o novo espermídeo passa por um curto período de crescimento. Neste intervalo a célula, bem como o núcleo, o aparelho de Golgi e os mitocôndrios sofrem um aumento dos seus volumes, que no caso do núcleo chega a ser duplo (compare as figuras 15 e 20). O aumento do volume do núcleo limita-se, exclusivamente, em uma simples infiltração do líquido nuclear, enquanto que a massa cromática se mantém com a mesma

quantidade. No fim do período de crescimento do espermídeo os mitocôndrios concentram-se, formando um corpo volumoso. Êste último processo inicia-se com a desintegração das cadeias de grânulos mitocondriais, que se encontram ainda com uma forma típica, depois da última telofase (fig. 15). Durante o período de crescimento (fig. 16), que sempre inclui alguns cistos vizinhos de um só folículo, os mitocôndrios acham-se irregularmente distribuídos sôbre todo o protoplasma, apresentando-se em forma de grânulos mais ou menos grosseiros. Logo depois, porém, êstes se concentram perto do centríolo e confluem, finalmente, para formar um corpo, aproximadamente, esférico (fig. 20) que, no início, quase tem o diâmetro do núcleo, sendo sua matéria apenas pouco condensada. Logo depois da fusão das partículas de mitocôndrios, o interior do corpo mitocondrial sofre uma série de modificações, que podem ser interpretadas como simples efeitos de condensação. Êste processo inicia-se no centro do corpo (por muitos autores chamado de "Nebenkern"). Da massa central compacta partem cordões de material condensado, que chegam até a periferia (fig. 20). Durante êstes acontecimentos, o corpo mitocondrial diminui ràpidamente de volume, e, em estádios mais avançados, êle atinge, sòmente, uma fração do tamanho do núcleo (figs. 21 a e 21 c). Também nesta fase, observamos estruturas no seu interior, que indicam que a atividade da matéria mitocondrial ainda está continuando (fig. 21 c, MI).

No espermídeo recemformado, o aparelho de Golgi consta de uma só placa (fig. 16, GO). Durante o período de crescimento, esta aumenta até o dôbro ou mesmo triplo do seu volume inicial (fig. 20, GO) e, em seguida, como acontece com a massa mitocondrial, sofre uma condensação e diminuição do seu tamanho (fig. 21c). Inicialmente, no novo espermídeo, os quatro componentes (restos dos fusos, centríolo duplo, mitocôndrios e aparelho de Golgi) encontram-se concentrados numa parte da célula, que corresponde ao futuro pólo apical do espérmio. No fim do período de crescimento, o aparelho de Golgi começa a migrar em redor do núcleo, para chegar ao seu pólo oposto (fig. 20, GO). Durante esta fase, o centríolo duplo é libertado do corpo dos restos dos fusos (fig. 20, CO), translocando-se no mesmo sentido que o aparelho de Golgi. Finalmente, o corpo mitocondrial e os restos dos fusos percorrem o mesmo caminho (fig. 21 b). Êste último, nos estádios subseqüentes, começa a desintegrar-se, sendo assimilado depois, completamente, pelo citoplasma (em geral ainda antes da formação do fio axial).

O centríolo duplo, durante a sua translação para o pólo oposto da célula, que doravante será chamado pólo basal, em virtude das diferenciações subseqüentes, pode passar perto do núcleo ou perto da parede celular; aparentemente, nesta translação, não existe qualquer regra. Uma certa irregularidade observamos, também, na seqüência cronológica dos citados movimentos dos quatro componentes pois, muitas vêzes, o aparelho de Golgi permanece ainda na posição inicial, enquanto que os centríolos já iniciaram ou mesmo terminaram a translação (fig.

21 a). Em virtude desta nova distribuição dos componentes protoplasmáticos, o núcleo sofre uma nítida translação no sentido da extremidade apical da célula. No pólo oposto forma-se, provocado pela adaptação do contôrno da célula, com as suas vizinhas, um prolongamento protoplasmático em forma de cone (fig. 22). O espermídeo modifica, assim, o seu aspecto redondo em um piriforme. O início da formação do cone basal representa o comêço da segunda fase da histogênese dos espermídeos.

Durante os primeiros estádios da fase de translação (isto é, nos espermídeos mais novos), a cromatina se desintegra em várias partículas grosseiras (figs. 15 e 17). Estas continuam a dividir-se, e os pequenos grânulos cromáticos juntam-se à parede nuclear, revestindo, em seguida, grandes áreas do lado interno da membrana do núcleo (fig. 18). Uma certa quantidade de cromatina fica ainda no interior do núcleo, desintegrando-se em minúsculas granulações, que em virtude do tamanho reduzido, se tingem apenas, ligeiramente, com hemateina, e dando ao líquido uma fraca turvação (figs. 22 e 23). Sòmente o heterocromosoma heteropicnótico permanece com o mesmo grau de condensação (figs. 20 e 21 c, HE).

E. FASES DE ALONGAMENTO

1. *Alongamento dos centríolos*

Depois da fase de translações, o centríolo duplo está situado no pólo basal do núcleo. Ao seu lado encontram-se a massa mitocondrial e o aparelho de Golgi, bem como ainda alguns vestígios dos restos dos fusos, que por sua vez, podem permanecer em posição apical e, aos poucos, vão sendo dissolvidos (fig. 23). Os dois grânulos do centríolo, um junto ao outro, justapõem-se sôbre a membrana do pólo basal do núcleo. Cada um dos dois corpúsculos, emite um filamento em direção ao cone protoplasmático basal, que imediatamente se reunem para compor um único fio axial (figs. 27 e 28). O corpo mitocondrial, no início desta fase ainda em forma de um único corpo mais ou menos redondo (figs. 23 e 24), sofre uma divisão longitudinal em duas porções iguais, incluindo entre si — isto é, no plano da sua fenda longitudinal — o fio axial ou as duas partes iniciais do mesmo (fig. 26). No interior do corpo mitocondrial ainda ocorrem modificações, em virtude de condensação, que se manifestam, conforme a fixação e coloração, sempre em diferentes aspectos microscópicos, e que mostram uma grande variabilidade, de modo que não se pode constatar qualquer regra fixa. Sòmente depois de um certo prossegimento no alongamento do espermídeo, aparece, com regularidade, uma zona central de condensação que, lentamente e em direção centrifugal, se estende sôbre todo o corpo mitrocondrial (fig. 28).

O aparelho de Golgi está situado, lateralmente, ao complexo simétrico que inclui o corpo mitocondrial, os centríolos e os fios axiais. Esta organela começa, mais cedo (fig.33) ou mais tarde (fig.37), a

formar um corpúsculo redondo e compacto, situado dentro da própria matéria, e que se tinge fortemente por hematenia. Êle separa-se, em seguida, do corpo materno para, mais tarde, formar o acrosoma. Em virtude desta propriedade, o aparelho de Golgi foi chamado de "acroblasto" por numerosos autores. Sendo esta designação, um sinônimo do têrmo aparelho de Golgi, e não havendo qualquer razão para aumentar o número de têrmos técnicos sem uma necessidade justificada, resolvemos manter êste último que, ao nosso ver, é o mais adequado.

Não foi observada uma imigração do fio axial para o interior do núcleo, como foi descrita por Meves (6) em *Paludina* e por Bonnewie (7 e 8) em *Enteroxenos*. Aspectos que levam à tal dedução podem ser reproduzidos por deformações, como pòr exemplo, reentrâncias e saliências que, às vêzes, em conseqüência de uma fixação incompleta aparecem no pólo do núcleo. Estas irregularidades ocorrem, fàcilmente, no ponto de justaposição dos dois centríolos ao núcleo pois, aí, o manto interno de cromatina é interrompido, deixando uma janela mais ou menos redonda no pólo basal, e que é fechada, sòmente, pela membrana nuclear. Conseguimos eliminar estas fontes de aspectos falsos, por meio de cortes com uma grossura de menos que um micron, e por observação, sem coloração, com contrastes de fases. Em cada caso do exame da inserção do fio axial notamos, que êste não ultrapassa os centríolos em direção apical; sempre constatamos *que o citado fio nasce dos dois centríolos* e se dirige, em linha reta, ao cone basal do espermídeo.

Não é possível enquadrar a formação do fio axial no esquema de *Bowen* (9), relativo à organização e gênese dos empérmios dos heterópteros, pois neste, o fio nasce de um só centríolo. Em *Triatoma infestans* a formação dupla do filamento manifesta-se não, sòmente, nos aspectos citológicos, apresentados até agora neste trabalho, mas também, nos resultados das observações obtidas em material macerado (veja em baixo), que provam a presença de dois fios no filamento axial da cauda do espérmio maduro.

Como resultado principal do estudo sôbre os centríolos podemos realçar, que os dois grânulos do centríolo sempre estão nìtidamente separados um do outro, e que os dois se justapõem, um ao lado do outro, sôbre a parede do pólo basal do núcleo, sendo, assim, impossível fazer uma distinção entre centríolos proximal e distal, pelo menos em *Triatoma infestans*. Aparentemente, não existe uma diferença fisiológica entre os dois centríolos, pois ambas se comportam da mesma maneira, fornecendo cada um, uma metade do filamento axial.

O fio axial cresce, contìnuamente, e penetra no cone protoplasmático basal, que continua a se prolongar. Neste processo, em nenhuma das observações, seja em cortes, seja em esfregaços, foi constatado, que o fio axial atravessa a membrana celular na extremidade do cone, para continuar como "parte terminal nua"; fato êste, freqüentemente, mencionado por numerosos autores em outras espécies de animais. Mesmo em esfregaços de espérmios maduros observa-se o manto portoplasmático até a extremidade da cauda (observado em contraste de fases e em

campo escuro). Muitas vêzes o fio axial, aparentemente, atravessa a membrana celular. Um exame em cortes finos prova, entretanto, que sempre se trata de superposições dos limites culares, pois o filamento prolonga-se, em direção do eixo maior do cone protoplasmático basal do espérmideo, e êste, por sua vez, projeta-se entre as células vizinhas. A possibilidade de observações erradas é dada em cistos, com espermídeos novos, onde tôdas as células se justapõem umas as outras, sem deixar espaços intercelulares.

Neste estádio, caracterizado pelos corpos mitocondriais ainda em forma esférica (fig. 28), as células dos espermídeos orientam-se em posição radial, com os pólos apicais em direção à parede do cisto (fig. 29). Mais tarde, com os espermídeos fortemente alongados, verifica-se uma translação, de maneira que tôdas as cabeças se orientam num só lado, em geral na região proximal do cisto. Assim, todos os 1 024 espermídeos de um cisto formam um feixe (fig. 30) que, em virtude do crescimento contínuo, enrola-se em espiral (fig. 1).

2. *Alongamento da massa mitocondrial*

Até esta fase a massa mitocondrial fica situada no pólo basal do núcleo, em forma de um corpo esférico, composta de duas metades hemisféricas, entre as quais passa o fio axial (fig. 28). As duas hemisferas começam a alongar-se em direção paralela ao filamento axial. Êste processo tem início no momento quando o fio axial atinge um comprimento que corresponde, aproximadamente, 8 ou 10 vêzes o do núcleo. O cone protoplasmático basal, concomitantemente, possui, então, a mesma extensão (fig. 31). Às vêzes, dentro da massa mitocondrial, aparecem estruturas fibrilosas concéntricas, de natureza transitória (figs. 31 a, c e d), e que, provàvelmente, são efeitos de uma fixação incompleta (veja em cima). No interior de cada hemisfera formam-se quatro concentrações da substância mitrocondrial, não bem limitadas (fig. 32 a), e cujo diâmetro diminui contìnuamente em direção à extremidade distal do futuro flagelo (figs. 32 b e c). Em estádios, com cauda mais alongada, os quatro filamentos internos de cada metade da massa mitocondrial, ficam ainda finas até, finalmente, não ser mais possível, mesmo com os aumentos maiores do microscópio de luz comum, identificar as unidades que, então, formam dois corpos situados, lateralmente, ao fio axial (fig. 35, FMI).

O alongamento da massa mitocondrial não se realisa uniformemente, mas sim em uma seqüência de dilatações que, em forma de ondas se estendem sôbre todo o comprimento do fio axial. A zona periférica da substância mitocondrial é, consideràvelmente, mais condensada do que a interna (fig. 33). Entre as dilatações, a zona periférica justapõe-se, diretamente, ao filamento axial que, por sua vez, não está em posição central mas sim, extremamente, excéntrica (fig.34). Em estádios ainda mais avançados, as dilatações, com material menos condensado, diminuem em número e tamanho (fig. 35), até desaparecerem nas células definitivamente alongadas. Podem-se confundir estas dilata-

ções, fàcilmente, com acumulações de portoplasma encontradas em vários pontos do flagelo, mesmo ainda no espérmio maduro, e que representam material eliminado, ainda aderente ao filamento caudal.

Em espermídeos fortemente alongados, a substância mitocondrial, na região entre as dilatações, acumula-se em dois grupos, justapondo-se, lateralmente, ao fio axial, como já foi mencionado em cima (fig. 35). Esta organização ainda pode ser observada em espérmios maduros. O fio axial, bem como os dois filamentos mitocondriais, que acompanham o primeiro, ficam revestidos por um manto de protoplasma, que vai diminuindo com a maturação do espérmio.

Os estádios de dilatação do flagelo oferecem certas facilidades para a observação da extremidade da cauda. Nota-se que, a substância mitocondrial se estende até a extremidade do fio axial onde, além disso, muitas vêzes, se encontram acumulações protoplasmáticas, mais ou menos volumosos.

Durante a fase de alongamento da massa mitocondrial, a cromatina continua a desintegrar-se em pequenas partículas; porém uma ou, às vêzes algumas porções, permanecem ainda em estado integral, por um tempo prolongado. Trata-se, talvez, de partes de heterocromatina, mas esta suposição fica em dúvidas pois as partículas possuem diferente afinidade para os corantes. Observa-se, entretanto, na maioria das células, um elemento da massa cromática, que sempre mantem a mesma forma e o mesmo grau de condensação, seja em posição apical (fig. 36), central (fig. 39) ou basal (fig. 33). Como tudo indica, êste corpo pode ser o heterocromosoma (x ou y). As partículas menores deslocam-se em direção à periferia nuclear, justapondo-se à mebrana em forma de um revestimento interno. Êste processo inicia-se com um reforçamento irregular da parede nuclear, no começo da fase de alongamento dos mitocôndrios (fig. 31); mais tarde, na zona apical, o revestimento de cromatina é contínuo (fig. 36). A formação dêste manto cromático prossegue em direção à base até que, na altura da formação do acrosoma (figs. 41 e 43) tôda a membrana nuclear fica revestida de cromatina.

3. *Formação do acrosoma*

Como foi mencionado, o aparelho de Golgi passa para o novo espermídeo em forma de uma única placa grosseira e de contôrno oval (figs. 20 e 21). A sua zona marginal é composta de uma substância mais condensada; esta região, em estádios mais avançados — em geral no início do alongamento do corpo mitocondrial — começa a formar uma dilatação (fig. 31). Esta, depois, condensa e separa-se do outro material da placa formando um corpo esférico (com um diâmetro de menos que um micron) (fig. 33) que, em seguida, é expulso do aparelho de Golgi (fig. 37). O corpo restante permanece ainda em sua posição no pólo basal do núcleo e, mais tarde, sem relação aos outros acontecimentos no interior da célula, desloca-se para a periferia (figs. 40 a 43) sendo, finalmente, eliminado da célula junto com uma porção do proto-

plasma, mais ou menos volumoso (figs. 43 e 44). O derivado esférico do aparelho de Golgi, que se tinge fortemente com hemateina, começa a migrar em redor do núcleo em direção ao pólo apical do mesmo (figs. 40-43), onde se justapõe, externamente, sôbre a membrana nuclear (figs. 44 e 45), formando a extremidade apical do futuro espérmio. É êste o chamado acrosoma. O protoplasma, na região apical e lateral do núcleo, forma apenas um revestimento muito fino.

Durante êste processo, o lado interno do núcleo vai sendo coberto, progressivamente, por cromatina. Como já foi mencionado acima, êste revestimento verifica-se de uma maneira irregular, deixando, temporàriamente, pequenas regiões membranosas (fig. 46) que, em seguida, também são revestidas, com exceção de uma pequena área redonda, situada exatamente no pólo basal do núcleo. Neste ponto membranoso, encontram-se os dois centríolos (fig. 47). Inicialmente, êstes são bem separados um do outro. Em seguida, entretanto, formam uma única placa, ligeiramente côncava, na qual não se pode mais individualizar, òpticamente, os dois componentes. Esta adapta-se, precisamente, à forma da área polar, fechando-a. A implantação íntima da placa dos centríolos é facilitada pela membrana nuclear flexível na região da janela (figs. 49).

4. *Primeira fase de alongamento do núcleo*

Depois de ter terminado as translações e os alongamentos dos elementos celulares, citados até esta altura da transformação de espermídeo em espérmio, o núcleo ainda possui forma redonda (fig. 45). No seu pólo apical, o acrosoma insere-se em forma de um curto cone. Na extremidade oposta, os dois centríolos encaixam-se na janela basal do revestimento cromático. Nas figuras 49 a, b e c estão apresentados três exemplos da implantação dos centríolos; em figura 49 d êste processo é esquematizado. A cromatina, que em fases anteriores já começou a desintegração e translação para a parede nuclear, formando um revestimento sôbre a membrana, continua ainda com êste processo, de maneira que, no interior do núcleo, encontram-se agora, sòmente, partículas cromáticas muito pequenas, colocadas sôbre uma rêde incompleta de linina (fig. 49 a) e, além destas, um corpúsculo cromático, fortemente condensado (fig. 49 c), situado na parte basal do núcleo. Êste último, provàvelmente, corresponde ao heterocromosoma.

O estádio caracterizado acima, é sempre fàcilmente encontrado pois, em virtude da cromatina, parcialmente em suspensão, o interior do núcleo oferece um aspecto mais ou menos homogêneo, de côr azul-preta, depois coloração pela hematoxilina férrica que tinge as partículas no líquido nuclear. Depois de ter terminado tôdas as transformações da cromatina, o núcleo começa a alongar-se no sentido do seu eixo longitudinal (fig. 50). Concomitantemente, o acrosoma sofre uma condensação e um ligeiro alongamento, sendo após, mais ponteagudo (figs. 50 a, 52 etc.). O manto interno de cromatina, inicialmente, ainda fica irregular (fig. 50 b), mas em núcleos mais ovais sua espessura já é

igual em tôdas as regiões (fig. 51). A cromatina parietal continua a condensar-se e os restos dos fragmentos cromáticos, mais cedo ou mais tarde, diminuem e desintegram-se definitivamente (figs. 52-55).

O núcleo alonga-se gradativamente (fig. 55), ficando cada vez mais estreito, com o seu eixo longitudinal algumas vêzes maior do que o transversal. Os centríolos, que formam a citada placa côncava na base do núcleo, adaptam-se à nova forma do núcleo aumentando, sempre mais, a sua concavidade (figs. 53 e 54). Finalmente, a placa forma um cone invertido (fig. 55) que, no seu interior, abriga a base do núcleo. Esta forma pode ser observada, sòmente, em cortes finos que foram feitos, exatamente, no sentido mediano (fig. 55). Êste dispositivo do cone basal, provàvelmente, reforça a inserção dos filamentos axiais da cauda sôbre a base do núcleo.

O alongamento do flagelo continua, também, durante a fase destas transformações do núcleo e dos centríolos. O seu diâmetro diminui continuamente. O crescimento da cauda, em sentido longitudinal, percorre mais acelerado do que o estreitamento do núcleo.

5. *Segunda fase de alongamento do núcleo*

Na primeira fase de alongamento do núcleo, foi completado pela cromatina o revestimento do lado interno da membrana nuclear (fig. 54). Depois de um alongamento, que atinge 3 vêzes mais, do que o maior diâmetro do núcleo, o "tapetum" de cromatina começa a formar dois reforçamentos, ou arestas longitudinais. Estas duas saliências, que se estendem entre os dois pólos do núcleo, encontram-se em posição assimétrica de maneira que, em corte transversal, a circunferência é subdividida em um arco maior (fig. 56, AG) e outro menor (fig. 56, AP). A orientação das arestas longitudinais é em forma de espiral, em tôrno do eixo longitudinal do núcleo (fig. 59). Esta organização verifica-se, focalisando um corte transversal de um núcleo em várias alturas subseqüentes, como é apresentado na figura 59 a-d. As saliências giram, no sentido inverso do indicador do relógio, isto é, da direita para a esquerda, começando com *a* em focalização baixa, passando através de *b* e *c* para o plano mais elevado em *d*, ponto êste, que está situado mais perto da extremidade apical do núcleo. Sendo os desenhos da figura 59 feitos por intermédio de tubo de projeção, tipo Zeiss, a inversão da imagem no microscópico já foi corrigida, de modo que a giração em tôrno do eixo longitudinal do núcleo, realmente, é contra o sentido do relógio. O mesmo fato pode ser observado na figura 60, onde se encontra uma série de cortes transversais da região perto da base do núcleo. Na figura 60 c foi cortada a borda superior do cone invertido dos centríolos, em uma pequena região. As figuras subseqüentes (d-f) mostram cortes do cone em várias alturas até o seu vértice (h). O núcleo, inclusive o acrosoma, como também a cauda, estão revestidos por um manto protoplasmático, cuja grossura depende muito da fixação (fig. 60). Na figura 60 i é apresentado um corte transversal pela cauda com o fio axial e os dois corpos de matéria mitocondrial. Focalisando êste corte em

vários planos (grossura do corte de 5 micra), observa-se que os dois filamentos dos mitocôndrios não correm em linha reta, paralelamente, ao eixo longitudinal, mas sim ligeiramente inclinados, e assim em linha espiral. A amplitude dêste espiral atinge, aproximadamente, 130-150 micra. Cada um dos dois filamentos mitocondriais descrevem, assim, 2 até 2,5 girações em tôrno do fio axial. Os dois elementos giram no mesmo sentido, que é contra o sentido do relógio.

O alongamento do núcleo continua nos cistos subseqüentes de um folículo. O arco menor, do corte transversal (fig. 56, AP), fica absolutamente reto formando-se, assim, a figura de uma ferradura (fig. 61). Esta forma de corte transversal permanece por muito tempo (figs. 62-67). A distância entre as duas arestas diminui durante a continuação do alongamento de modo que estas estruturas cromáticas salientes se aproximam até entrar em contato direto entre si (figs. 67-70). Dest'arte, no espérmio, quase maduro (fig. 70), existe apenas uma pequena cavidade, repleta de líquido nuclear, que durante a última fase de condensação, ainda é eliminado. Tanto no microscópio de luz comum, quanto no microscópio eletrônico, o corte transversal do núcleo sempre aparece como uma figura redonda, de substância compacta e muito densa, que não permite observar qualquer estrutura interna. O revestimento de protoplasma na região da cabeça consta de um manto fino como uma membrana delicada, enquanto que na cauda a quantidade de protoplasma ainda é relativamente grande, pois êste preenche, também, os espaços entre os elementos fibrilares (veja em baixo).

F. ESPÉRMIOS

O comprimento total do espérmio atinge 300 micra, dos quais 38 micra pertencem à cabeça. Estas medidas são valores médios; as oscilações são relativamente pequenas, aproximadamente entre 5 e 10 %. Com excessão da subdivisão do espérmio em acrosoma, cabeça e cauda (fig. 71), não se pode observar diferenciações estruturais pelo microscópio de luz comum e pelos métodos complementares como contraste de fases, luz polarizada ou campo escuro. O acrosoma distingue-se bem da cabeça por suas qualidades ópticas (fig. 72), como também pela estrutura, pois forma um prolongamento da cabeça, ligeiramente curvado (fig. 71 e 73). Na fotografia, pelo microscópio eletrônico (fig. 72), o acrosoma apresenta-se como um corpo, nítidamente distinto da cabeça, composta de uma substância menos densa do que aquela. A matéria da cabeça é compacta; o revestimento protoplasmático não é visível e, provàvelmente, existe sòmente uma película fina como resto do manto de protoplasma, que ainda observamos nos estádios de evolução nos espérmídeos. A cauda (lado esquerdo da figura 72) possui os elementos fibrilares (o fio axial duplo e os dois grupos da substância mitocondrial). Êstes são visíveis na fotografia como sendo a parte preta, indicando que a sua matéria é mais densa. Sendo êste complexo de posição excêntrica, observamos o manto protoplamático apenas em

um lado, em forma de uma zona mais transparente em virtude da menor densidade do material. Não é possível descrever mais minúscias do espérmio em estado integral, em vista dos nossos atuais recursos ópticos.

Considerando os resultados, obtidos pelo estudo da histogênese, podemos concluir, que o espérmio possui a seguinte organização, que deve ser aprovada por intermédio de outros métodos:

a) Acrosoma em forma de um cone, ligeiramente curvado, inserindo-se na extremidade do núcleo;

b) Núcleo, formando a cabeça, atingindo um comprimento de, aproximadamente, 38 micra. Sua base é incluída por uma parte dos centríolos. Provàvelmente, esta formação representa uma inserção forte do fio axial da cauda.

c) Cauda ou flagelo, com um comprimento médio de 300 micra. Este compõe-se do fio axial duplo, oriundo dos centríolos, e de duas porções de filamentos periféricos, de origem mitocondrial. Fica ainda duvidosa, se a exrtemidade do fio axial é revestida por protoplasma ou se ela representa, realmente, uma peça terminal nua, pois não foi observado que o fio, durante seu crescimento, sai do revestimento protoplasmático do espermídeo.

A fim de analizar a composição da cauda, o espérmio foi submetido a vários processos de maceração, métodos êstes que já foram aplicados por Ballowitz (10-12), Wu et Makenzie (2) e outros. Depois das primeiras experiências, deixamos o emprego dos líquidos caústicos (em geral várias concentrações de hidróxidos, ácidos ou NaCl) pois, além do manto protoplasmático, havia destruição, também, do fio axial. Usamos, como método mais suave, água destilada fervida, como meio hipotônico, a fim de provocar uma embebição e desintegração do revestimento do flagelo. Os espérmios maduros são tirados da vesícula seminalis e colocados, durante 10 a 40 horas em água destilada, mantendo o preparado numa temperatura de 5º até 8º na geladeira. Observamos que, o fio axial é destruído após 20 horas de exposição. A dilaceração do flagelo em 10 horas de maceração é insuficiente. O tempo mais favorável é entre 16 e 18 horas, sendo nestes preparados o fio axial, em geral, ainda bem conservado mas já dividido em seus dois componentes. Depois de 18 horas, a água é retirada parcialmente, e adicionado um soluto de ácido ósmico a 1% em água, tamponado com p_H 7,25. Deixamos o ácido gotejar na suspensão, de modo que depois de 1 hora o líquido fixador completa a suspensão até o dôbro; assim a concentração do ácido ósmico é diminuída até aproximadamente 0,5%.

Os espérmios, desta maneira fixados e limpos são sombreados com cromo, sob um ângulo de 30º, em alto vácuo, e, em seguida, fotografados no miscroscópio eletrônico por H. Muth, a quem agradecemos pela valiosa colaboração.

A maceração já pode ser provocada depois de 50 minutos, e seu resultado observado no miscroscópio de luz comum sob contraste de fases: coloca-se uma gôta de uma suspensão de espérmios, em água destilada sôbre a lâmina, mantendo-a, como gôta pendente, em 25º até 27º. Depois de 50 a 60 minutos, espalha-se a gôta e coloca-se a lâmina em uma placa de Petri, com algumas gôtas de um soluto de ácido ósmico a 1 ou 2%. A fixação é suficiente depois de 10 a 15 minutos. Observa-se os espérmios no mesmo líquido, cobertos por uma lamínula, com imersão a óleo e contraste de fases. O resultado são os aspectos da figura 73, com aparecimento agora de três filamentos. Um dêstes (FA), em geral, continua em linha reta e em sentido do eixo longitudinal da cabeça (CA), e, provàvelmente, corresponde ao fio axial duplo. Os dois outros filamentos são idênticos com os derivados das duas metades da massa mitocondrial (FMI) do espérmio; êstes, em geral, enrolam-se em espiral irregular, o que indica que no espérmio integral fica acumulada uma certa tensão unilateral, que é libertada pela destruição do manto protoplasmático. A identificação dos três filamentos com o fio axial e os complexos mitocondriais é provada pela observação de cortes transversais dos espérmios no microscópio eletrônico (veja em baixo). A desintegração do flagelo em três fios, já foi mencionada por Ballowitz (10, figs. 18 e 22 do trabalho dêste autor) em espérmios de *Apis mellifica,* depois de maceração em NaCl.

O material dilacerado em água destilada, e depois sombreado com cromo, é observado no microscópio eletrônico, que dá os seguintes aspectos: em virtude da embibição com o líquido hipotônico, grandes regiões do flagelo desintegram-se em seus componentes mais finos, pois o manto de protoplasma é destruído pela hipertensão, provocada pela intensa entrada de água enquanto que todos os seus derivados, como filamentos e fibrilas, permanecem na sua forma original. As fibrilas do manto protoplasmático aparecem nas fotografias, feitas no microscópio eletrônico, em forma de fios muito delicados, de diâmetros variáveis, e cuja matéria é semitransparente para os raios eletrônicos (figs. 74-76; 78 e 79). Nas partes do flagelo, que em virtude da embibição, sofreram uma dilatação, mas ainda não foram dilaceradas, notamos duas estrias longitudinais, fortemente condensadas (figs. 76 e 77). No momento da dilaceração completa, estas duas estruturas desintegram-se, *dando origem à quatro microfibrilas cada uma* (fig. 76). Sendo estas estruturas idênticas aos dois derivados dos mitocôndrios, *constatamos a presença de oito microfibrilas mitocondriais.* O fio axial, aparentemente, é muito sensível contra a água destilada, pois sòmente é encontrado em material que não permanece mais do que 16 horas na água, ou, aliás, em lugares da cauda que foram fixados no momento do início da dilaceração. Nas figuras 74-77 o fio axial não é conservado pois o material ficou mais do que 20 horas na água destilada. A dilaceração neste caso já cessou, pois os fios mitocondriais não se enrolam tanto como em material que ainda se encontra em plena reação. Nos espérmios das figuras 78 e 79 (com 16 horas de maceração), o aspecto é diferente. A dilaceração no momento da fixação está em plena atividade, o que se pode concluir pelos

fios isolados, que se enrolam em espiral. Nas figuras 76-79 observa-se, nìtidamente, a desintegração das duas estrias longitudinais, citadas em cima, com o resultado de duas vêzes quatro microfibrilas. Na figura 78, o fio axial também mostra sua composição de dois elementos (FA).

Comparamos estas observações com fotografias de cortes transversais da cauda de espérmios maduros, feitas no microscópio eletrônico. O material, incluído em metacrilato, foi cortado por H. Muth num micrótomo para cortes ultrafinos, construído por êste colega. O flagelo deixa observar a sua composição, que consta de um fio axial, de dois corpos em forma de vírgula, e de um revestimento portoplasmático, apenas, parcialmente, conservado nos cortes.

Em certas partes dos cortes, casualmente mais finos, observa-se a estrutura interna dos corpos em forma de vírgula, composto de quatro elementos e incluídos numa massa menos densa (seta na figura 81).

Baseando-se nestes fatos, citados até agora, podemos reconstruir um corte transversal do flagelo (fig. 82). Êste consta de:

a) fio axial, de posição excêntrica, composto de dois elementos, ìntimamente fundidos entre si, de modo que aparece um só fio redondo.

b) dois corpos em forma de vírgula, derivados da massa mitocondrial do espermídeo. Cada um dos corpos possui quatro microfibrilas, incluídas numa massa não diferenciada. Esta, por sua vez, não é idêntica ao citoplasma pois durante a dilaceração reage diferente, e tem uma densidade maior do que aquêle. Cada um dos dois corpos é circundado por uma película.

c) manto protoplasmático, incluindo os três grupos de filamentos, citados em cima, e composto de componentes fibrilares finos, que estão incluídos em citoplasma não diferenciado.

Na figura 86 apresentamos uma reconstrução de um setor da cauda, em três dimensões.

A presença de oito fios mitocondriais no flagelo está em contradição às apresentações de Frey-Wyssling (13). Êste, em suas comunicações atuais, sôbre a composição de undulipódios em animais e vegetais, generaliza os resultados dizendo, que tôdas estas organelas constam, "quase sem exceção, de 11 microfibrilas", das quais duas, em posição central, pertencem ao fio axial, enquanto que as nove restantes (mitocondriais) estão localizadas na periferia, orientadas sôbre uma linha circular concêntrica. Dos insetos, êle menciona apenas a "barata"; infelizmente, por falta de uma indicação bibliográfica exata, não conseguimos examinar êste fato. Qualquer generalização, a respeito do número dos filamentos mitocondriais, pode ser feita apenas com certas restrições, pois, pelo menos, em *Triatoma infestans* encontra-se, além do duplo fio axial, *sòmente 8 fios mitocondriais*. O mesmo dito vale também para a posição dos fios "periféricos", distribuídos em *Triatoma infestans* sôbre dois grupos. Comparamos êstes fatos com o espérmio de um Ouriço do Mar, tratado pelos mesmos métodos, como foi citado em cima. Verificamos

neste a presença de um duplo fio axial, de posição central (fig. 87, FA, FA) e de nove fibrilas periféricas, unidas em três grupos de três fibrilas cada um (fig. 87: 1-3; 4-6; 7-9). Provàvelmente, o tratamento convencional com hidróxidos, ácidos e sais dilacera, também, as películas que circundam cada corpo em forma de vírgula.

A presença de oito fibrilas mitocondriais nos fagelos dos espérmios, não é um achado novo, pois já em 1890 E. Ballowitz (14) em *Calathus, Hydrophilus piceus* e outras espécies de insetos, bem como K. Ballowitz (10), em 1894, em *Gryllus vulgaris* e *Gryllotalpa vulgaris*, encontraram 1 fio duplo central e 8 fios periféricos, conforme os desenhos feitos por êles.

G. RESUMO

No trabalho apresentado, descrevemos a evolução do espérmio maduro de *Triatoma infestans*, iniciando-se a observação das transformações a partir dos espermídeos. Destacamos, em seguida, os principais resultados:

1. A histogênese dos espérmios é subdividida em 6 fases que se superpõem, parcialmente, a respeito do cronismo dos acontecimentos celulares:
   a) Fase de translações (translações dos centríolos, mitocôndrios e do aparelho de Golgi do pólo apical para o pólo basal da célula).
   b) Alongamento dos centríolos (formação do filamento axial).
   c) Alongamento da massa mitocondrial (formação dos fios periféricos).
   d) Formação do acrosoma (divisão do aparelho de Golgi em acrosoma e corpo restante, que é eliminado da célula; além disto, translação do acrosoma para o pólo apical).
   e) Primeira fase de alongamento do núcleo (alongamento do núcleo e condensação da cromatina).
   f) Segunda fase de alongamento do núcleo (alongamento definitivo do núcleo para formar a cabeça do espérmio).
2. Os centríolos, em *Triatoma infestans*, podem ser observados, continuamente, dos estádios da profase (estádio dos cromosomas difusos) até o fim da formação do espérmio. Para esta observação precisamos de cortes finos com, aproximadamente, um micron de espessura.
3. Os centríolos, depois da última divisão de maturação, ficam escondidos no interior do corpo dos restos dos fusos.
4. Não se pode distinguir o centríolo distal do proximal. Os dois justapõem-se, um ao lado do outro, sôbre a parede do núcleo.
5. O fio axial tem origem dos dois centríolos, sendo êste um fio duplo.

6. Observamos a transformação dos mitocôndrios em microfibrilas da cauda bem como a de uma parte do aparelho de Golgi em acrosoma.
7. Depois da condensação da cromatina sôbre a parede do núcleo, formam-se duas saliências longitudinais cromáticas, que são orientadas em espiral com torsão em sentido inverso do relógio. Por isso, o corte transversal do núcleo, fortemente alongado, tem o aspecto de ferradura.
8. O espérmio maduro é composto pelos seguintes elementos, cuja existência é provada, no microscópio eletrônico, por intermédio de cortes e dilacerações:
   a) Acrosoma (em forma de um cone, ligeiramente curvado).
   b) Núcleo, formando a "cabeça" do espérmio, sem qualquer estrutura visível no seu interior.
   c) Cone basal do núcleo, formado pelos centríolos.
   d) Fio axial, composto de duas microfibrilas dos centríolos.
   e) Oito fios longitudinais mitocondriais, unidos em dois grupos (corpos em forma de vírgula), e incluídos em uma massa homogênea. Cada um dos corpos em forma de vírgula é revestido por uma película.
   f) Manto protoplasmático, que reveste núcleo e acrosoma, em forma de uma película fina, que no flagelo, entretanto, preenche o espaço entre fio axial e os corpos em forma de vírgula, incluindo perifèricamente, tôda a cauda.
9. Como tudo indica, também, a extremidade do flagelo é revestida por protoplasma de modo que, aparentemente, não existe uma parte extracelular.
10. O comprimento total do espérmio é de 300 micra, inclusive a cabeça, com 38 micra de comprimento. Estas medidas oscilam apenas ligeiramente. O diâmetro da cabeça é de 0,5 a 0,6 micra, o da parte central da cauda é de 0,17 a 0,18 micra.

H. ZUSAMMENFASSUNG.

In der vorliegenden Arbeit wird die Entwicklung der reifen Spermien von *Triatoma infestans*, ausgehend von den Spermiden, geschildert. Es ergaben sich folgende bemerkenswerte Resultate:

1. Die Histogenese des Spermiums wird in folgende Phasen eingeteilt, die sich zeitweise in ihrem zeitlichen Ablauf ueberdecken:
   a) Umlagerungsphase (Verlagerung der Centriole, Mitochondrien und des Golgiapparates zur Basis des Kerns).
   b) Streckung der Centriole (Bildung des Achsenfadens).
   c) Streckung der Mitochondrialmasse (Bildung der peripheren Faeden).

d) Bildung des Acrosoms (Teilung des Golgiapparates in Acrosom und Restkoerper, der aus der Zelle ausgestossen wird; ausserdem Verlagerung des Acrosoms zum Apikalpol).

e) Erste Streckungsphase des Kerns (Streckung des Kerns und Kondensierung des Chromatins).

f) Zweite Streckungsphase des Kerns (endgueltige Streckung des Kerns, der den Spermienkopf bildet).

2. Die Centriole koennen bei *Triatoma infestans* von den Stadien der Prophase (Stadium der diffusen Chromosome) bis zum Schluss der Spermienbildung verfolgt werden. Hierzu sind Duennschnitte um 1 micron fuer das Lichtmikroskop erforderlich.
3. Die Centriole verbergen sich nach der letzten Reifungsteilung im Spindelrestkoerper.
4. Die Centriole sind nicht in distales und proximales zu differenzieren. Beide legen sich, eng aneinander gerueckt, der Kernwand an.
5. Die Bildung des Achsenfadens erfolgt von beiden Centriolen, so dass er als Doppelfaden gebildet wird.
6. Es wird der Uebergang der Mitochondrien in die Geisselfaeden und die Umwandlung eines Teils des Golgiapparates in das Acrosom verfolgt.
7. Nach der Kondensierung des Chromatins an der Kernwand bilden sich an dieser zwei spiralig gewundene Laengswuelste aus Chromatin. Hierdurch erfaehrt der Querschnitt des staerker gestreckten Kerns ein hufeisenfoermiges Aussehen.
8. Das fertige Spermium baut sich aus folgenden Elementen auf, die an Hand von Dilazerationen und Schnitten im Elektronenmikroskop nachgeprueft wurden:
   a) Acrosom, in Form eines kurzen, etwas gebogenen Kegels.
   b) Kern, ohne feinere Stuktur im Inneren.
   c) Basalkegel des Kerns, aus den Centriolen gebildet.
   d) Axialfaden, aus zwei Mikrofibrillen der Centriole aufgebaut.
   e) Acht mitochondriale Laengsfaeden, die in zwei Gruppen (kommafoermige Koerper) zusammengefasst und in einer homogenen Masse eingebettet sind. Jeder dieser Koerper ist von einer Pellicula ueberzogen.
   f) Protoplasmamantel, der Acrosom und Kern als duenne Pellicula ueberzieht, in der Geissel jedoch den Raum zwischen Axialfaden und Komma-Koerper ausfuellt und die gesamte Geissel einhuellt.
9. Allem Anschein nach ist auch das Endstueck der Geissel von Protoplasma umhuellt, so dass ein extrazellularer Teil der Geissel nicht zu bestehen scheint.

10. Die Laenge des Spermiums betraegt etwa 300 micra, wovon 38 micra auf den Kopf entfallen. Die Laenge schwankt nur in geringem Masse. Der Durchmesser des Kopfes liegt bei 0,5-0,6 micra, der des Mittelstueckes bei 0,17-0,18 micra.

I. ABREVIAÇÕES NAS FIGURAS.

As abreviações, não contidas nas legendas das figuras, indicam:

ACR	Acrosoma
AG	Arco maior
AL	Aresta longitudinal
AP	Arco menor
CO	Centríolo
FA	Fibrila axial
FC	Fibrila axial
FMI	Fibrilas mitocondriais
GO	Aparelho de Golgi
GOR	Restos do aparelho de Golgi
HE	Heterocromosoma
MI	Mitocôndrios
PRT	Protoplasma pericaudal
RF	Restos dos fusos
TE	Tétrades

Nos casos em que a legenda não indique outro aumento, significa que tôdas as figuras foram desenhadas com um aumento de 3 450 vêzes.

K. BIBLIOGRAFIA.

1. Barth, R., 1956, Estudos anatômicos e histológicos sôbre a subfamília Triatominae (Heteroptera, Reduviidae). V. Parte: Anatomia do testículo e espermiocitogênese do *Triatoma infestans*.
Mem. Inst. Osw. Cruz, 54: 135-229, 113 figs.

2. Wu, S. F. et Mckenzie, F., 1954, Electron Microscopic Study of Spermatozoa. Science, 119: 212-213.

3. V. La Valette St. George, A., 1885-1887, Spermatologische Beitrage Arch. mikrosk. Anat., Vols. 25 e 30.

4. Meves, F., 1900, Ueber den von v. La Valette St. George entdeckten Nebenkern (Mitochondrienkoerper) in Samenzellen.
Arch. mikrosk. Anat., Vol. 56.

5. Otte, H., 1907, Samenreifung und Samenbildung bei *Locusta viridissima*. Zool. Jb. (Anat.), 24: 431-520, 2 figs., 3 pl.

6. Meves, F., 1902, Ueber oligoprene und apyrene Spermien von *Paludina* und *Pygaera*.
Arch. mikrosk. Anat., Vol. 61.

7. Bonnevie, K., 1905, Das Verhalten des Chromatins in den Keimzellen von *Enteroxenos*.
Anat. Anz., Vol. 26.

8. Bonnevie, K., 1906, Beobachtungen an den Keimzellen von *Enteroxenos*. Jena. Z. Naturw., Vol. 41.

9. Bowen, H. R., 1924, Studies on insect spermatogenesis. Journ. of Morph., Vol. 39.

10. Ballowitz, K., 1924, Zur Kenntnis der Samenkoerper der Arthropoden. Z. f. Anat. Physiol., Vol. 11.

11. Ballowitz, E., 1891, Weitere Beobachtungen ueber den feineren Bau der Saeugethierspermatozoen. Z. wiss. Zool., Vol. 52
(com indicação da bibliografia mais antiga do mesmo e de outros autores).

12. Ballowitz, E., 1894, Bemerkungen zu der Arbeit von Dr. phil. Karl Ballowitz. Z. f. Anat. Physiol., Vol. 11

13. Frey-Wyssling, A., 1955, Die submikroskopische Struktur des Cytoplasmas. Em: Protoplasmatologia. Handbuch der Protoplasmaforschung. Vol. II A2, Wien 1955
(O trabalho contém a bibliografia antiga e recente).

14. Ballowitz, E., 1890, Die Spermatozoen der Insekten (I. Coleopteren). Zeitschr. wiss. Zool., Vol. 50.

ESTAMPA 1

Fig. 1: Esquema de um folículo em corte longitudinal para indicar as zonas das modificações das células germinativas até a formação do espérmio maduro. Explicações veja no texto.

Fig. 1 — Schema eines Follikels im Laengsschnitt, um die Zonen der Modifikationen der Keimzellen bis zur Bildung des reifen Spermiums zu zeigen. Erklaerungen siehe Text.

ESTAMPA 1

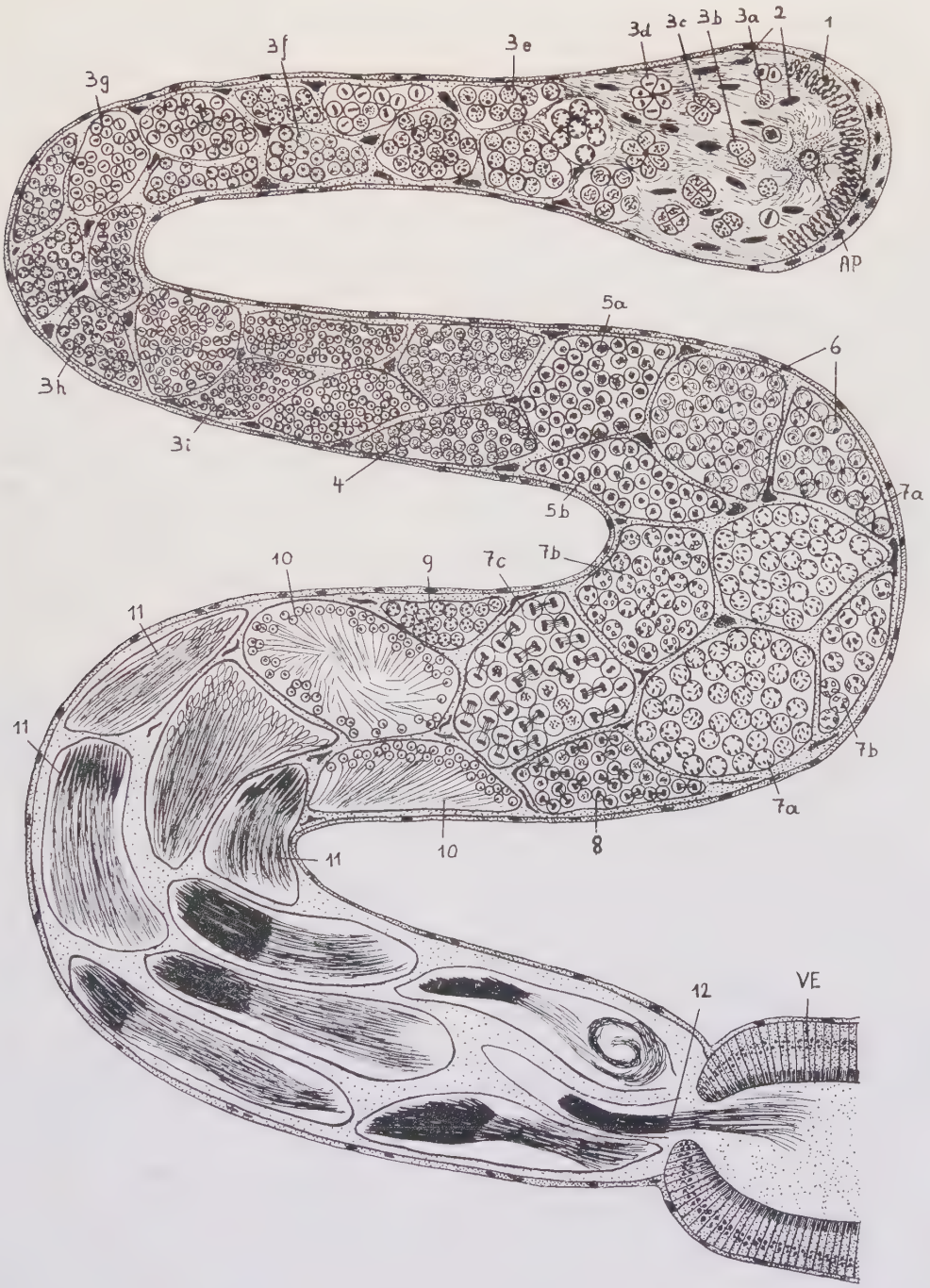


Fig. 1

ESTAMPA 2

Fig. 2: Espermiócitos em fase dos cromosomas difusos. A célula à esquerda em corte mediano; a célula à direita em corte tangencial. O corpo cromático condensado inclui os cromosomas A, B, C, x e y (heteropicnóticos).

Fig. 3: Microfotografia de uma parte de um cisto contendo espermiócitos na fase dos cromosomas difusos. Aumento de 450 vêzes.

Fig. 4: Microfotografia de uma parte de um cisto contendo espermiócitos em fase inicial da formação de tétrades (diacínese). Aumento de 450 vêzes.

Fig. 5: Microfotografia de uma parte de um cisto contendo espermiócitos em fase da dissolução do corpo heteropicnótico, com tétrades dos pequenos autosomas (AU). Aumento 450 vêzes.

Fig. 2 — Espermiocyte in der Phase der diffusen Chromosomen. Die Zelle links im medianen Schnitt; rechts im Tangentialschnitt. Der dichte Chromatinkoerper schliesst die Chromosomen A, B, C, x und y (heteropycnotische) ein.

Fig. 3 — Microfografie eines Teils einer Zyste mit Spermiozyten in der Phase der diffusen Chromosomen. Vergroesserung 450 fach.

Fig. 4 — Microfotografie eines Teils einer Zyste mit Spermiocyten in der Anfangsphase der Tetradenbildung (Diakinese). Vergroesserung 450 fach.

Fig. 5 — Microfotografie eines Teils einer Zyste waehrend der Aufloesung des heteropycnotischen Koerpers mit Tetraden der kleinen Autosomen (AU). Vergroesserung 450 fach.

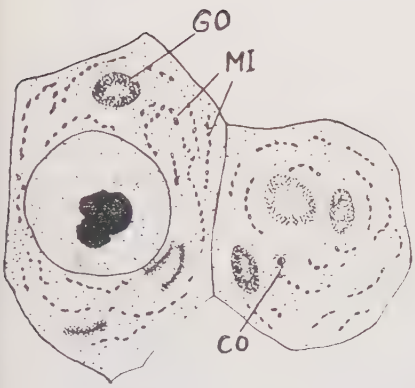


Fig. 2

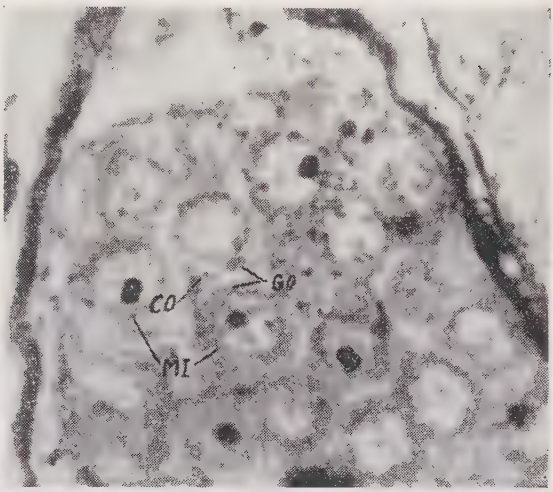


Fig. 3

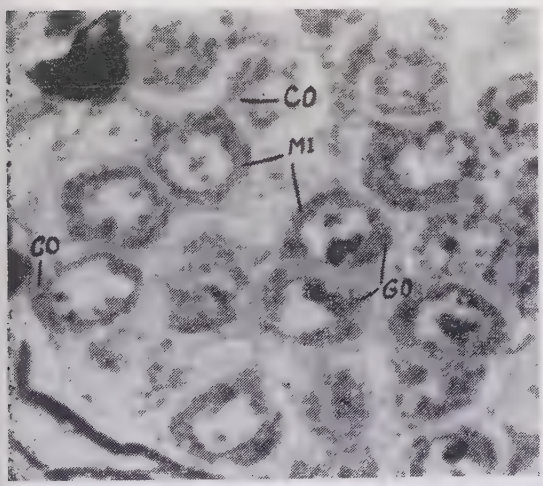


Fig. 4

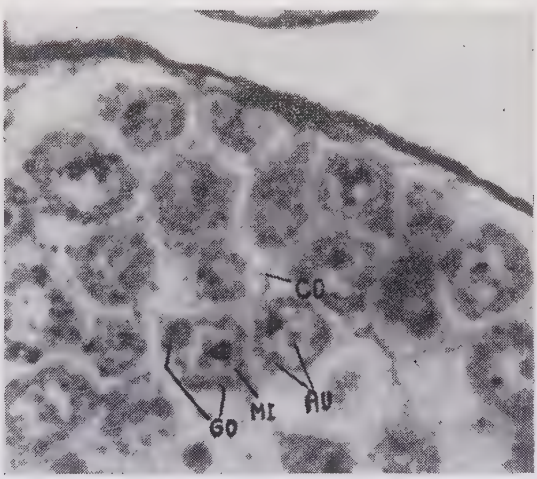


Fig. 5

ESTAMPA 3

Fig. 6: Espermiócito na fase de diacínèse contendo tétrades perfeitas e dois centríolos em posição oposta.

Fig. 7: Placas equatoriais da primeira divisão de maturação.

Fig. 8: Placas equatoriais da segunda divisão de maturação.

Fig. 9: Segunda divisão de maturação; à esquerda o pólo dos fusos com o centríolo já duplicado; à direita, em aspecto lateral, com dois cromosomas e os centríolos duplos (parcialmente em superposição), e com o aparelho de Golgi e mitocôndrios; êstes acumulados no plano equatorial.

Fig. 10: Microfotografia de metafase da primeira divisão de maturação. Aumento 450 vêzes.

Fig. 11: Microfotografia da metafase da segunda divisão de maturação. Aumento 450 vêzes.

Fig. 6 — Spermiocyte in Diakinese mit vollstaendigen Tetraden und zwei sich gegenueberstehenden Centriolen.

Fig. 7 — Aequatorialplatten der ersten Reifeteilung.

Fig. 8 — Aequatorialplatten der zweiten Reifeteilung.

Fig. 9 — Zweite Reifeteilung; links der Spindelpol mit schon verdoppeltem Centriol; rechts, in Seitenansicht, mit zwei Chromosomen und den doppelten Centriolen (teilweise ueberlagert), sowie mit Golgiapparat und Mitochondrien; letztere sind in der Aequatorialgegend angereichert.

Fig. 10 — Microfotografie der Metaphase der ersten Reifeteilung. Vergroesserung 450 fach.

Fig. 11 — Microfotografie der Metaphase der zweiten Reifeteiluníg. Vergroesserung 450 fach.

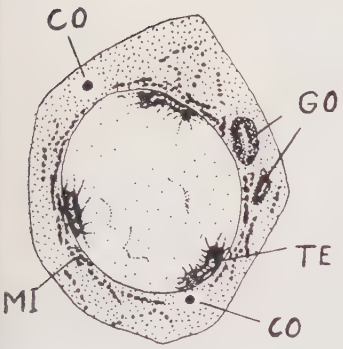


Fig. 6

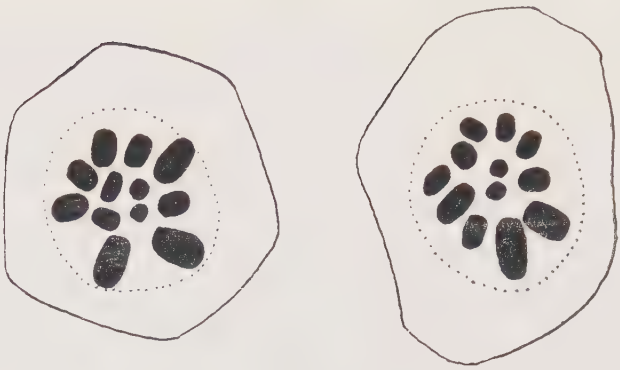


Fig. 7

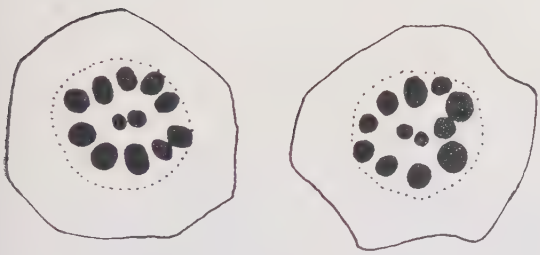


Fig. 8

Fig. 9

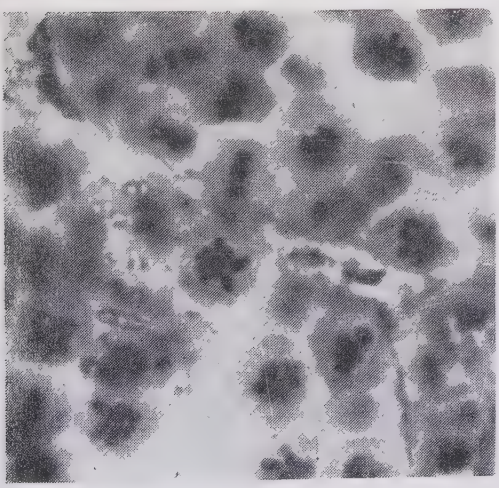


Fig. 10

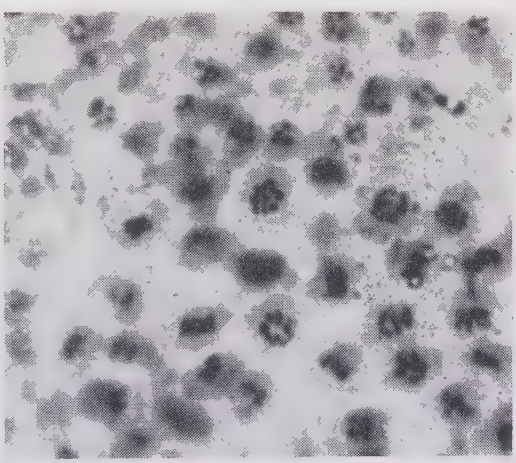


Fig. 11

ESTAMPA 4

Fig. 12: Microfotografia da segunda divisão de maturação com estados em metafase (M) e em anafase(A). Aumento 450 vêzes.

Fig. 13: Telofase da segunda divisão de maturação. As duas partes do centríolo em superposição.

Fig. 14: Telofase da segunda divisão de maturação. Em baixo o pólo da célula visto de cima. ZDI — divisão celular da primeira divisão de maturação.

Fig. 15: Telofase da segunda divisão de maturação em fase final com os centríolos dentro da massa de fusos, estádio depois da torsão dos núcleos.

Fig. 16: Espermídeos. A célula direta em corte equatorial; a da esquerda sòmente a porção superior com o centríolo duplo.

Fig. 17: Núcleos de espermídeos recém-formados.

Fig. 12 — Micrọfotografie der zweiten Reifungsteilung mit Metaphasestadien (M) und Anaphasestadien (A). Vergroesserung 450 fach.

Fig. 13 — Telophase der zweiten Reifeteilung. Die beiden Teile des Centriols sind uebereinander gelagert.

Fig. 14 — Telophase der zweiten Reifungsteilung. Unten der Zellpol von oben. ZDI — Zellteilung der ersten Reifungsteilung.

Fig. 15 — Telophase der zweiten Reifungsteilung mit den Centriolen innerhalb der Spindelmasse, Stadium nach der Drehung der Kerne.

Fig. 16 — Spermiden. Die Zelle rechts im Aequatorialschnitt, links nur der obere Zellteil mit dem doppelten Centriol.

Fig. 17 — Kerne junger Spermiden.

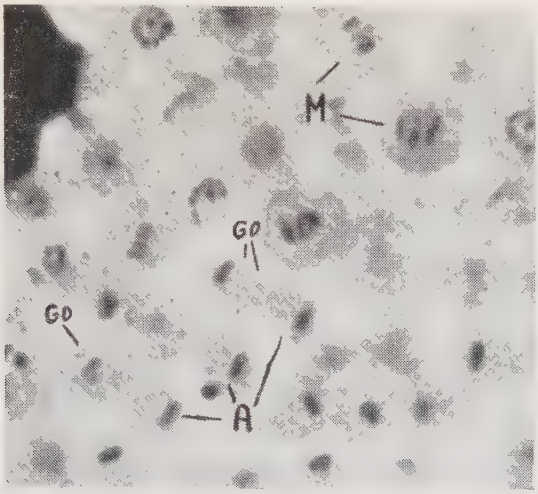


Fig. 12

Fig. 13

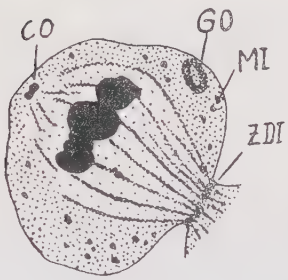


Fig. 14

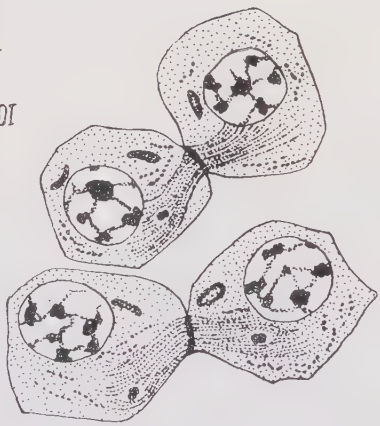


Fig. 15

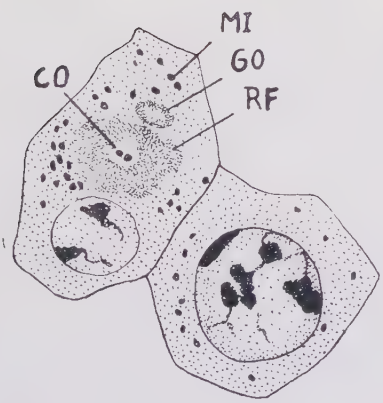


Fig. 16

Fig. 17

ESTAMPA 5

Fig. 18: Núcleos de espermídeos depois da translação da cromatina para a parede do núcleo.

Fig. 19: Microfotografia de espermídeos recém-formados (em cima) e durante o período de crescimento (em baixo). Chamamos a atenção para a diferença entre os diâmetros dos núcleos das duas formas. Aumento 450 vêzes.

Fig. 20: Espermídeo antes da fase de translação dos componentes protoplasmáticos. O heterocromosoma (HE) ainda condensado; os autosomas em desintegração.

Fig. 21: Espermídeos na fase de translação dos componentes protoplasmáticos. a) Aparelho de Golgi, restos dos fusos e mitocôndrios no futuro pólo basal; o centríolo duplo ainda em posição apical. b) O centríolo duplo translocando-se para o pólo basal. c) Todos os componentes no pólo basal. d) Aparelho de Golgi e centríolo duplo no pólo basal do espermídeo.

Fig. 18 — Spermidenkerne nach der Verlagerung des Chromatins an die Kernwand.

Fig. 19 — Microfotografie junger Spermiden (oben) und Spermiden waehrend des Wachstums (unten). Es wird auf die Differenz der Durchmesser der Kerne beider Formen aufmerksam gemacht. Vergroesserung 450 fach.

Fig. 20 — Spermide vor der Verlagerung der Protoplasmakomponenten. Das Heterochromosom noch kondensiert (HE), die Autosomen in Zerfall.

Fig. 21 — Spermiden waehrend der Umlagerung der Protoplasmakomponenten. a) Golgiapparat, Spindelfaserrest und Mitochondrien am spaeteren basalen Zellpol; das doppelte Centriol noch in apikaler Stellung. b) Das Doppelcentriol verlagert sich zum basalen Zellpol. c) Alle Komponenten befinden sich am basalen Pol. d) Golgiapparat und Centriolen am basalen Pol der Spermide.

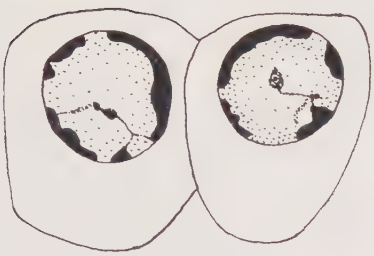


Fig. 18

Fig. 19

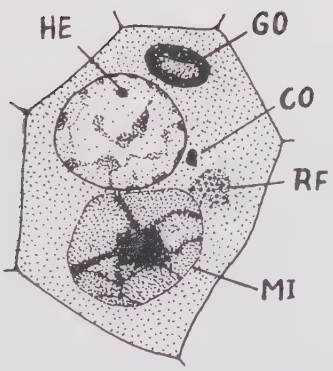


Fig. 20

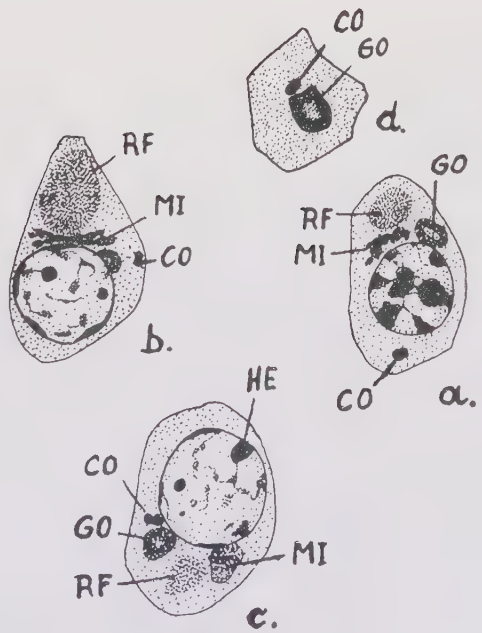


Fig. 21

ESTAMPA 6

Fig. 22: Espermídeos no início da fase de alongamento. Aparelho de Golgi ainda não condensado.

Fig. 23: Espermídeo no início da fase de alongamento com os vestígios da massa de fusos (RF).

Fig. 24: Espermídeo no início da fase de alongamento.

Fig. 25: Espermídio no início da fase de alongamento.

Fig. 26: Corte transversal do espermídeo do estadio da figura 25.

Fig. 27: Espermídeo na fase de alongamento com aparelho de Golgi e mitocôndrios em posição irregular no ápice da célula. À esquerda três diferentes aspectos do corpo mitocondrial em estado de condensação.

Fig. 28: Espermídeo alongado, e corte transversal na altura dos mitocôndrios.

Fig. 22 — Spermiden im Anfang der Streckungsphase. Golgiapparat noch nicht kondensiert.

Fig. 23 — Spermide im Anfang der Streckungsphase mit Resten der Spindelfasern.

Fig. 24 — Spermide im Anfang der Streckungsphase.

Fig. 25 — Spermide im Anfang der Streckungsphase.

Fig. 26 — Querschnitt durch eine Spermide im Stadium der Figur 25.

Fig. 27 — Spermide in der Streckungsphase; Golgiapparat und Mitochondrien in unregelmaessiger Stellung am oberen Zellpol. Links drei verschiedene Stadien des mitochondrialen Koerpers im Stadium der Kondensation.

Fig. 28 — Gestreckte Spermide und ihr Querschnitt in der Hoehe der Mitochondrienmasse.

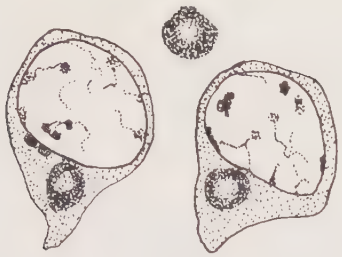


Fig 22

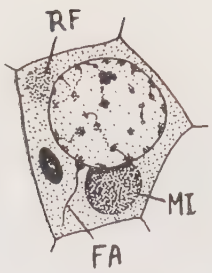


Fig. 23

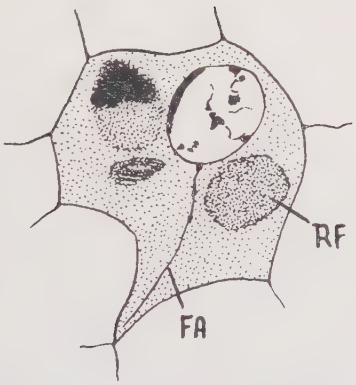


Fig. 24

Fig. 25

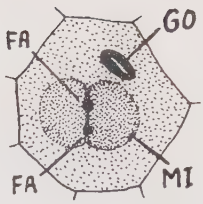


Fig. 26

Fig. 27

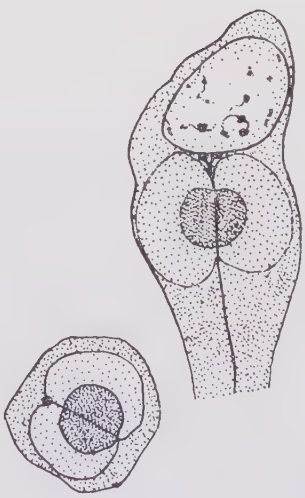


Fig. 28

ESTAMPA 7

Fig. 29: Esquema da localização dos espermídeos no cisto durante o estado com massa mitocondrial ainda em forma esférica.

Fig. 30: Microfotografia de cistos com os espermídeos em posição paralela. Aumento 450 vêzes.

Fig. 31: a) Espermídeo do início da fase de alongamento da massa mitocondrial. b) Aparelho de Golgi. c) e d) Cortes transversais da parte apical da massa mitocondrial com os dois componentes do fio axial ainda separados.

Fig. 32: Corte transversal das massas mitocondriais durante a fase de seu alongamento. a) Perto da base do núcleo. b) Na região central. c) Na região posterior.

Fig. 33: Parte apical de um espermídeo com a substância mitocondrial na fase de alongamento.

Fig. 29 — Schema der Lage der Spermiden in der Zyste waehrend des Stadiums der noch nicht kugelfoermigen Mitochondrienmasse.

Fig. 30 — Microfotografie von Zysten mit Spermiden in paralleler Lage. Vergroesserung 450 fach.

Fig. 31 — Spermide im Anfang der Streckungsphase des Mitochondrienkoerpers. b) Golgiapparat. c) und. d) Querschnitte durch den apikalen Teil des Mitochondrienkoerpers mit den beiden noch getrennten Komponenten des Axialfadens.

Fig. 32 — Querschnitte durch den Mitochondrienkoerper waehrend seiner Streckungsphase. a) Nahe der Base des Kerns. b) in seiner Mitte. c) im unteren Teil.

Fig. 33 — Apikalteil einer Spermide mit der mitochondrialen Substanz waehrend der Streckungsphase.

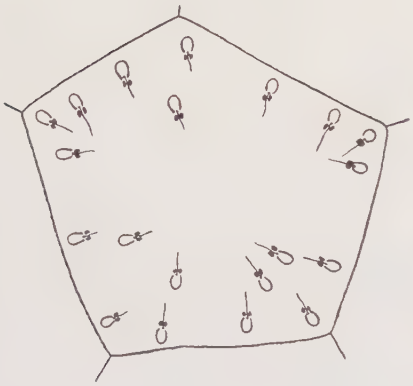


Fig. 29

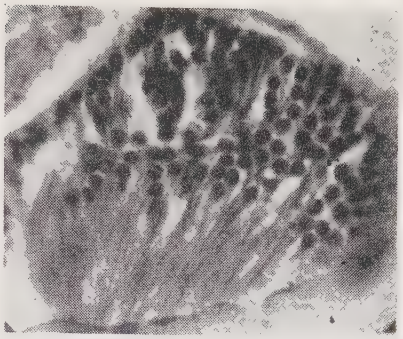


Fig. 30

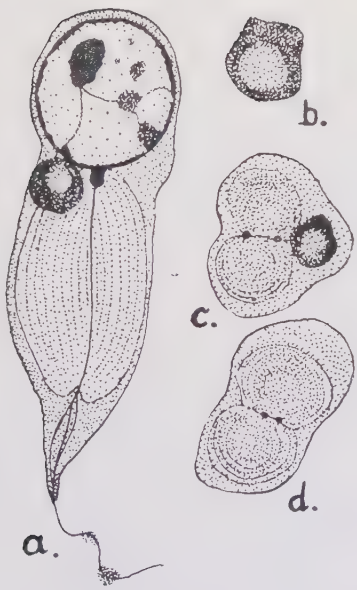


Fig. 31

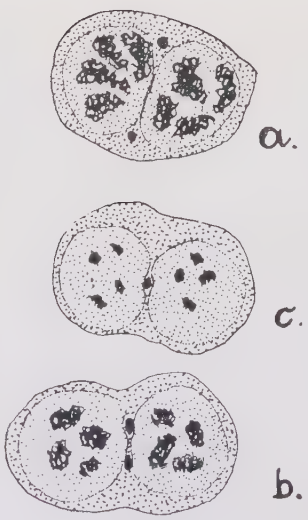


Fig. 32

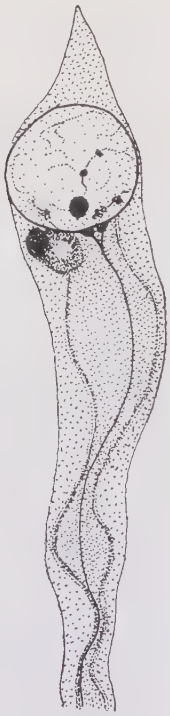


Fig. 33

ESTAMPA 8

Fig. 34: Parte da cauda no estádio de alongamento. Cortes transversais em várias alturas. Em N, uma das dilatações vista de cima.

Fig. 35: Partes da cauda no fim da fase de alongamento. Cortes transversais em várias alturas.

Fig. 36: Dois núcleos de espermídeos durante a fase de alongamento dos mitocôndrios com a concentração da cromatina no pólo apical.

Fig. 37: Espermídeo no momento da saída do acrosoma do aparelho de Golgi (desenhado sem a massa mitocondrial).

Fig. 38: Cabeças de espermídeos com o acrosoma isolado.

Fig. 39: Cabeças de espermídeos com o acrosoma isolado.

Fig. 40: Cabeças de espermídeos com o acrosoma isolado.

Fig. 34 — Teil des Schwanzes im Streckungsstadium. Querschnitte in verschiedenen Hoehen. In N eine der Auftreibungen von oben gesehen.

Fig. 35 — Teile des Schwanzes am Ende der Streckungsphase. Querschnitte in verschiedenen Hoehen.

Fig. 36 — Zwei Spermidenkerne waehrend der Streckungsphase der Mitochondrien mit der Ansammlung des Chromatins am apikalen Pol.

Fig. 37 — Spermide im Augenblick der Ausstossung des Acrosoms aus dem Golgiapparat (ohne die Mitochondrienmasse gezeichnet).

Fig. 38 — Spermidenkoepfe mit isoliertem Acrosom.

Fig. 39 — Spermidenkoepfe mit isoliertem Acrosom.

Fig. 40 — Spermidenkoepfe mit isoliertem Acrosom.

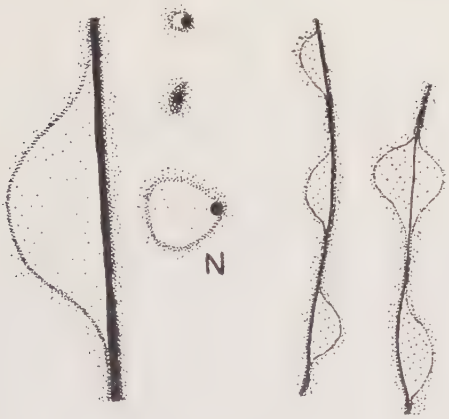


Fig. 34

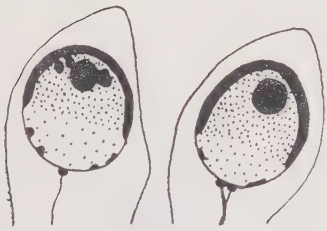


Fig. 36

Fig. 38

Fig. 37

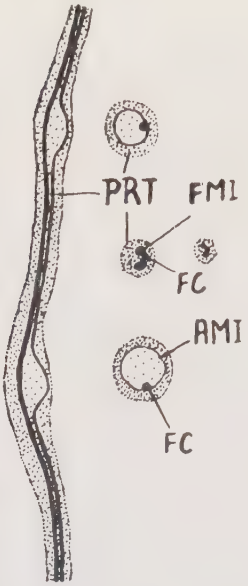


Fig. 35

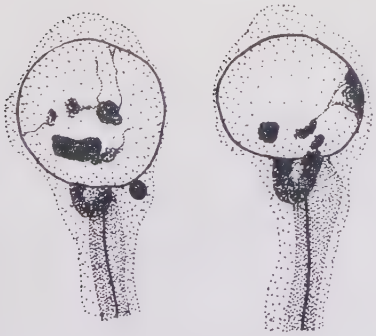


Fig. 40

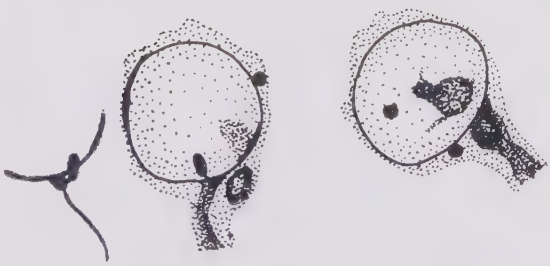


Fig. 39

ESTAMPA 9

Fig. 41: Acrosoma em translação ao pólo apical do espermídeo.

Fig. 42: Acrosoma em translação ao pólo apical do espermídeo. O resto do aparelho de Golgi eliminado.

Fig. 43: Acrosoma em translação ao pólo apical do espermídeo. O resto do aparelho de Golgi eliminado.

Fig. 44: Acrosoma implantado no pólo apical do núcleo. O resto do aparelho de Golgi eliminado.

Fig. 45: Acrosoma implantado no pólo apical do núcleo. A esquerda corte transversal de cinco caudas.

Fig. 46: Quatro cortes transversais de núcleos durante a formação do revestimento cromático da parede nuclear.

Fig. 47: Cortes longitudinais dos núcleos, mostrando a implantação dos centríolos.

Fig. 48: Cortes longitudinais dos núcleos com os centríolos implantados. Fase terminal do revestimento cromático da parede nuclear.

Fig. 41 — Acrosom waehrend der Verlagerung zum Apikalpol der Spermide.

Fig. 42 — Acrosom waehrend der Verlagerung zum Apikalpol der Spermide. Der Rest des Golgiapparates ausgestossen.

Fig. 43 — Acrosom waehrend der Verlagerung zum Apikalpol der Spermide. Der Rest des Golgiapparates ausgestossen.

Fig. 44 — Acrosom am apikalen Pol des Kerns. Der Rest des Golgiapparâtes ausgestossen.

Fig. 45 — Acrosom am apikalen Pol des Kerns. Links Querschnitte durch 5 Schwaenze.

Fig. 46 — Vier Querschnitte durch Kerne waehrend der Bildung der Chromatinauskleidung der Kernwand.

Fig. 47 — Laengsschnitte durch Kerne, um die Einbettung der Centriole zu zeigen.

Fig. 48 — Laengsschnitte durch Kerne mit eingebetteten Centriolen. Endphase der Chromatinauskleidung der Kernwand.

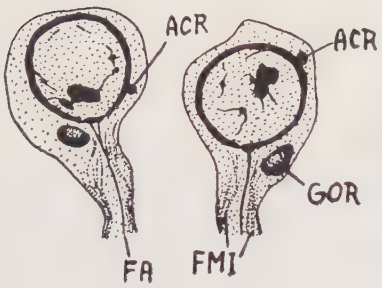


Fig. 41

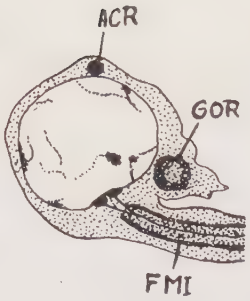


Fig. 42

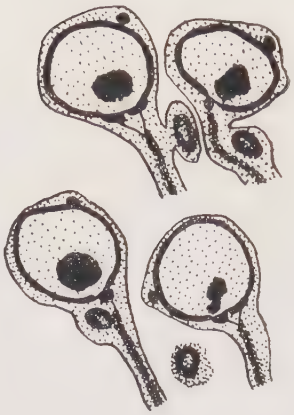


Fig. 43

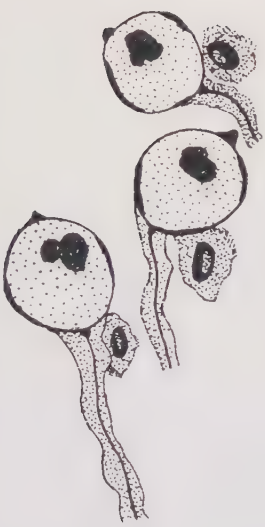


Fig. 44

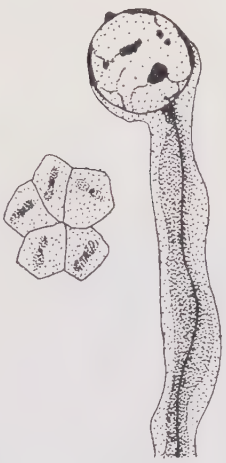


Fig. 45

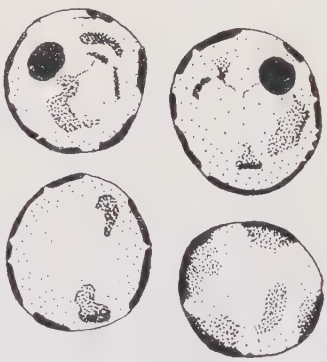


Fig. 46

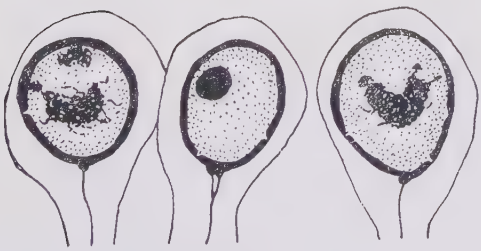


Fig. 48

Fig. 47

ESTAMPA 10

Fig. 49: a)-c) Cortes sagitais mediais do núcleo no início da primeira fase de seu alongamento. Em d) esquema da implantação do acrosoma e dos centríolos (protoplasma e mitocôndrios não desenhados).

Fig. 50: Cortes longitudinal (a) e transversal (b) do núcleo no início da primeira fase de seu alongamento.

Fig. 51: Cortes transversais do núcleo oval durante a primeira fase do seu alongamento.

Fig. 52: Núcleos durante a primeira fase de alongamento.

Fig. 53: Núcleos durante a primeira fase de alongamento.

Fig. 54: Núcleos durante a primeira fase de alongamento. Transformação dos centríolos em cone invertido, incluindo a extremidade basal do núcleo.

Fig. 55: Núcleos no início da segunda fase de alongamento. Centríolos transformados em cone invertido. Início da formação das arestas cromáticas (AL). À direita reconstrução da base do núcleo. O protoplasma e os mitocôndrios não foram desenhados.

Fig. 49 — a)-c) Mediane Sagitalschnitte des Kerns im Anfang seiner ersten Streckungsphase. In d) Schema der Einbettung des Acrosoms und der Centriolen (Protoplasma und Mitochondrienkoerper nicht gezeichnet).

Fig. 50 — Laengsschnitte (a) und Querschnitte (b) des Kerns im Anfang seiner ersten Strêckungsphase.

Fig. 51 — Querschnitte durch den ovalen Kern waehrend seiner ersten Streckungsphase.

Fig. 52 — Kerne waehrend der ersten Streckungsphase.

Fig. 53 — Kerne waehrend der ersten Streckungsphase.

Fig. 54 — Kerne waehrend der ersten Streckungsphase. Umbildung der Centriole in einen umgekehrten Kegel, das basale Ende des Kerns umschliessend.

Fig. 55 — Kerne im Anfang der zweiten Streckungsphase. Centriole in einen ungekehrten Kegel umgewandelt. Beginn der Bildung der Chromatinleisten (AL). Rechts Rekonstruktion der Basis des Kerns. Protoplasma und Mitochondrien nicht gezeichnet.

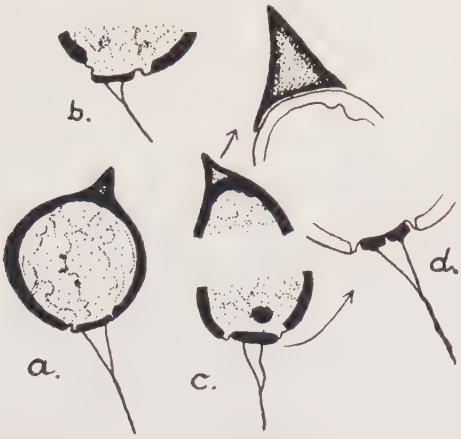


Fig. 49

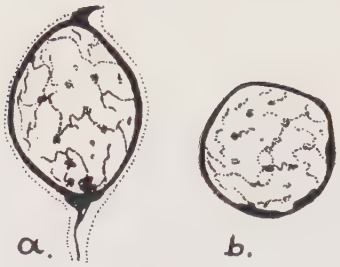


Fig. 50

Fig. 51

Fig. 52

Fig. 53

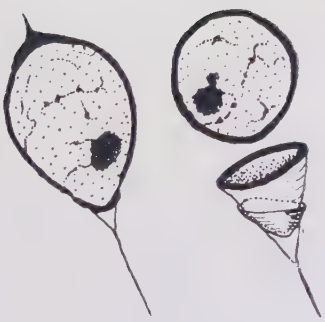


Fig. 54

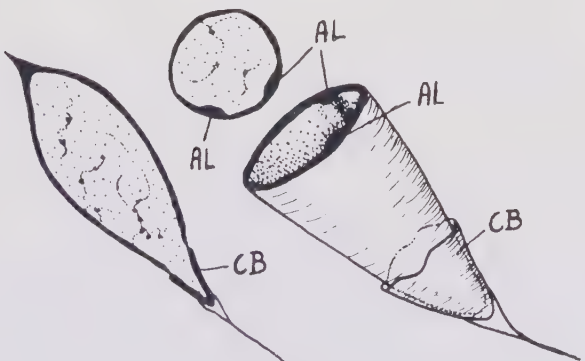


Fig. 55

ESTAMPA 11

Fig. 56: Núcleos no início da segunda fase de alongamento.

Fig. 57: Núcleos na segunda fase de alongamento.

Fig. 58: Núcleos na segunda fase de alongamento. Em cima três cortes transversais da cauda.

Fig. 59: Núcleos no início da segunda fase de alongamento (sem protoplasma). As letras a-d referem-se a quatro cortes do mesmo núcleo em diferentes alturas. As translações das arestas cromáticas em cortes subseqüentes, no sentido inverso do relógio indicam a posição das mesmas em forma de espiral.

Fig. 60: Série de cortes subseqüentes de um único núcleo da segunda fase de alongamento em diferentes alturas. a) no meio; b) em cima do cone basal dos centríolos; c)-f) na borda superior do cone basal; g) no cone basal; h) na extremidade basal do cone; i) corte da cauda.

Fig. 56 — Kerne im Anfang der zweiten Streckungsphase.

Fig. 57 — Kerne waehrend der zweiten Streckungsphase.

Fig. 58 — Kerne waehrend der zweiten Streckungsphase. Oben drei Querschnitte durch den Schwanz.

Fig. 59 — Kerne im Anfang der zweiten Streckungsphase (ohne Protoplasma). Die Buchstaben a-d beziehen sich auf vier Querschnitte desselben Kerns in verschiedenen Hoehen. Die Verlagerung der Chromatinleisten in sich folgenden Schnitten gegen den Uhrzeigersinn deutet auf ihren spiraligen Verlauf hin.

Fig. 69 — Serie von Querschnitten durch einen Kern der zweiten Streckungsphase in verschiedenen Hoehen. a) in der Mitte; b) oberhalb des Basalkegels der Centriole; c)-f) am oberen Rand des Basalkegels; g) im Basalkegel; h) an der Spitze des Kegels; i) Schnitt durch den Schwanz.

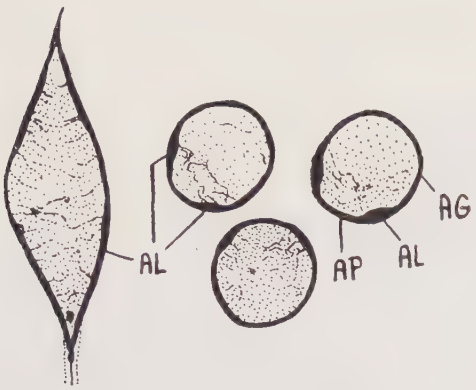


Fig. 56

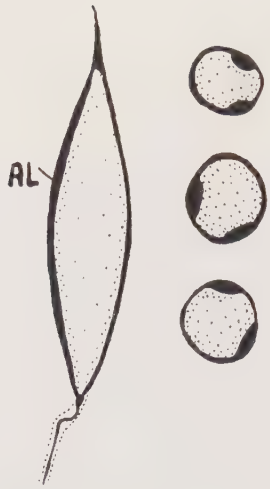


Fig. 57

Fig. 58

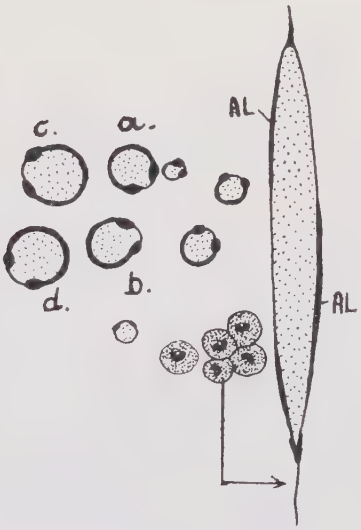


Fig. 59

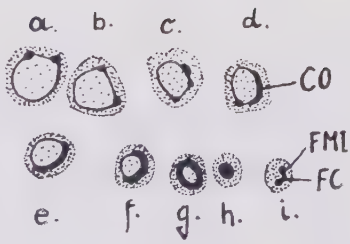


Fig. 60

ESTAMPA 12

Fig. 61: Reconstrução do núcleo e cortes transversais no início da fase dos núcleos em forma de ferradura.

Fig. 62: Cortes transversais dos núcleos em forma de ferradura.

Fig. 63: Cortes transversais dos núcleos em forma de ferradura, e uma parte do corte longitudinal do núcleo muito alongado.

Fig. 64: Cortes transversais dos núcleos em forma de ferradura e da cauda com o fio axial e os dois grupos de substância mitocondrial.

Fig. 65: Cortes transversais de núcleos em forma de ferradura.

Fig. 66: Cortes transversais de núcleos em forma de ferradura. Alongamento avançado.

Fig. 67: Cortes transversais de núcleos em forma de ferradura. Alongamento avançado.

Fig. 68: Cortes transversais de núcleos em forma de ferradura. Alongametno avançado.

Fig. 69: Cortes transversais de núcleos em forma de ferradura. Núcleos muito alongados. a)-d) diferentes estádios de alongamento.

Fig. 70: Cortes transversais de núcleos em forma de ferradura. Núcleo quase do comprimento definitivo da cabeça do espérmio maduro.

Fig. 61 — Rekonstruktion des Kerns und Querschnitte im Anfang der Phase der hufeisenfoermigen Kerne.

Fig. 62 — Querschnitte durch Kerne in Hufeisenform.

Fig. 63 — Querschnitte durch Kerne in Hufeisenform und Teil eines Laengsschnittes eines stark gestreckten Kerns.

Fig. 64 — Querschnitte durch Kerne in Hufeisenform und durch den Schwanz mit dem Axialfaden und den beiden Gruppen aus mitochondrialer Substanz.

Fig. 65 — Querschnitte durch Kerne in Hufeisenform.

Fig. 66 — Querschnitte durch Kerne in Hufeisenform, stark gestreckt.

Fig. 67 — Querschnitte durch Kerne in Hufeisenform, stark gestreckt.

Fig. 68 — Querschnitte durch Kerne in Hufeisenform, stark gestreckt.

Fig. 69 — Querschnitte durch Kerne in Hufeisenform. Kerne sehr stark gestreckt a)-d) Verschiedene Stadien der Streckung.

Fig. 70 — Querschnitte durch Kerne in Hufeisenform. Kern fast von der Laenge des Kopfes des reifen Spermiums.

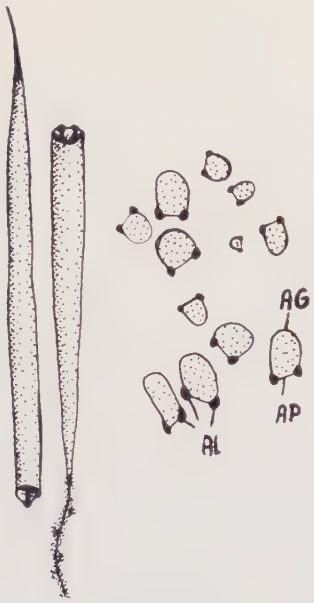


Fig. 61

Fig. 62

Fig. 63

Fig. 64

Fig. 65

Fig. 66

Fig. 67

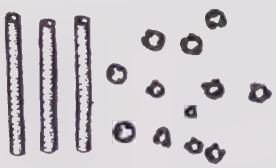


Fig. 68

Fig. 69

Fig. 70

ESTAMPA 13

Fig. 71: Espérmios maduros. As setas indicam a zona entre a cabeça e cauda. Aumento 1 420 vêzes.

Fig. 72: Espérmio maduro. Extremidade apical da cabeça com acrosoma, e parte do meio da cauda com os elementos fibrilosos (preto) e o manto de protoplasma (transparente). Aumento 7 000 vêzes. Fotografado no microscópio eletrônico por H. Muth.

Fig. 73: Cabeça e parte inicial da cauda de espérmios maduros, tratados em água destilada (50 minutos) e fixadas por gás de ácido ósmico. Coloração com "Kernechtrot". Contraste de fases. ACR acrosoma; CA cabeça; FA fio axial; FMI fios mitocondriais.

Fig. 71: Reife Spermien. Die Pfeile bezeichnen die Zone zwischen Kopf und Schwanz. Vergroesserung 1 420 fach.

Fig. 72 — Reifes Spermium. Spitze des Kopfes mit Acrosom und ein Teil aus der Mitte des Schwanzes mit den fibrillaeren Elementen (schwarz) und dem Protoplasmamantel (transparent). Vergroesserung 7 000 fach. Fotografie im Elektronen-Mikroskop durch H. Muth.

Fig. 73 — Kopf und Anfangsteil des Schwanzes reifer Spermien nach Behandlung mit destiliertem Wasser (50 Minuten) und Fixierung mit Osmiumdampf. Faerbung mit Kernechtrot. Phasenkontrast. ACR Acrosom; CA Kopf; FA Axialfaden; FMI Mitochondriale Faeden.

Fig. 71

Fig. 72

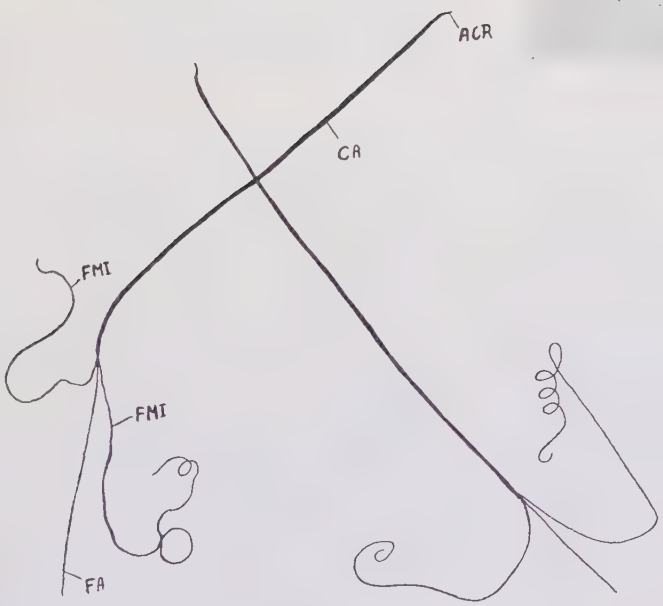


Fig. 73

ESTAMPA 14

Fig. 74: Parte do flagelo dilacerado com 6 fios mitocondriais e filamentos do manto protoplasmático. Aumento 3 300 vêzes. Fotografado no microscópio eletrônico por H. Huth.

Fig. 75: Início de dilaceração. Os dois grupos de fios mitocondriais são desintegrados, formando, cada um, dois fios duplos. Aumento 7 300 vêzes. Fotografado no microscópio eletrônico por H. Muth.

Fig. 76: Parte do flagelo dilacerado. A região compõe-se de dois grupos, contendo cada um quatro fios mitocondriais, e de numerosos fios finos do manto protoplasmático. Aumento 3 300 vêzes. Fotografado no microscópio eletrônico por H. Muth.

Fig. 77: Parte do flagelo dilacerado. As duas condensações de mitocôndrios da parte integral do flagelo (à esquerda) dão origem a oito fios mitocondriais. Aumento 3 300 vêzes. Fotografado no miscroscópio eletrônico por H. Muth.

Fig. 78: Parte do flagelo dilacerado. 1-8: os fios mitocondriais; FA: fio axial, composto de dois elementos. Aumento 3 300 vêzes. Fotografado no microscópio eletrônico por H. Muth.

Fig. 79: Parte do flagelo dilacerado. 1-8: os fios mitocondriais; FA: fio axial; composta de dois elementos. Aumento 3 300 vêzes. Fotografado no microscópio eletrônico por H. Muth.

Fig. 74 — Teil einer dilazerierten Geissel mit 6 mitochondrialen Fibrillen und protoplasmatischen Mikrofibrillen. Vergroesserung 3 300 fach. Fotografie im Elektronen-Mikroskop durch H. Muth.

Fig. 75 — Beginn der Dilazeration. Die beiden Gruppen mitochondrialer Filamente sind gesprengt und formen je zwei Doppelfaeden. Vergroesserung 7 300 fach. Fotografie durch H. Muth im Elektronen-Mikroskop.

Fig. 76 — Teil einer dilazerierten Geissel, bestehend aus zwei Gruppen aus je vier mitochondrialen Filamenten und zahlreichen protoplasmatischen Mikrofibrillen. Vergroesserung 3 300 fach. Fotografie im Elektronen-Mikroskop durch H. Muth.

Fig. 77 — Teil einer dilazerierten Geissel. Die beiden Kondensationen von Mitochondrienmaterial des nicht zerlegten Teils der Geissel (links) desintegrieren sich in insgesamt acht Filamente. Vergroesserung 3 300 fach. Fotografie im Elektronen-Mikroskop durch H. Muth.

Fig. 78 — Teil der dilazerierten Geissel. 1-8: mitochondriale Filamente; FA Axialfaden, zusammengesetzt aus zwei Filamenten. Vergroesserung 3 300 fach. Fotografie im Elektronen-Mikroskop durch H. Muth.

Fig. 79 — Teil der dilazerierten Geissel. 1-8: mitochondriale Filamente; FA Axialfaden, aus zwei Filamenten zusammengesetzt. Vergroesserung 3 300 fach. Fotografie im Elektronen-Mikroskop durch H. Muth.

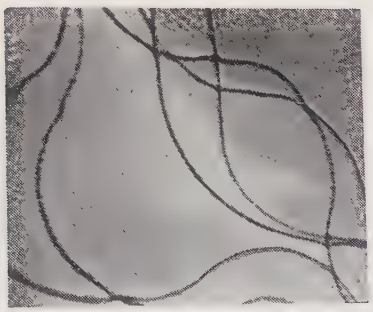


Fig. 74

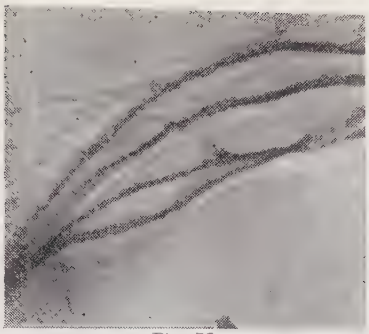


Fig. 75

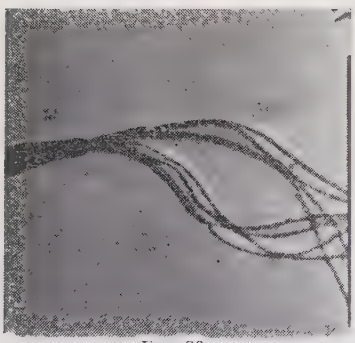


Fig. 76

Fig. 77

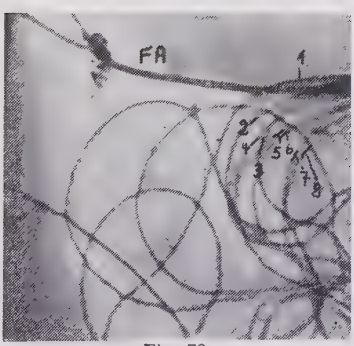


Fig. 78

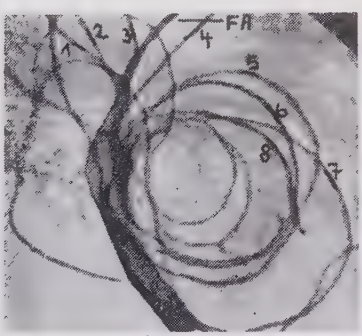


Fig. 79

ESTAMPA 15

Fig. 80: Corte transversal de flagelos de espérmios maduros, tirados da vesícula seminalis. Aumento 15 000 vêzes. Fotografado no microscópio eletrônico por H. Muth.

Fig. 81: Corte transversal de flagelos de espérmios maduros, tirados da vesícula seminalis. Aumento 15 000 vêzes. Fotografado no miscroscópio eletrônico por H. Muth.

Fig. 82: Corte transversal de flagelos de espérmios maduros, tirados da vesícula seminalis. Aumento 30 000 vêzes. Fotografado no microscópio eletrônico por H. Muth.

Fig. 80 — Querschnitt durch die Geissel reifer Spermien, der Samenblase entnommen. Vergroesserung 15 000 fach. Fotografie im Elektronen-Mikroskop durch H. Muth.

Fig. 81 — Querschnitt durch die Geissel reifer Spermien, der Samenblase entnommen. Vergroesserung 15 000 fach. Fotografie im Elektronen-Mikroskop durch H. Muth.

Fig. 82 — Querschnitt durch die Geissel reifer Spermien, der Samenblase entnommen. Vergroesserung 30 000 fach. Fotografie im Elektronen-Mikroskop durch H. Muth.

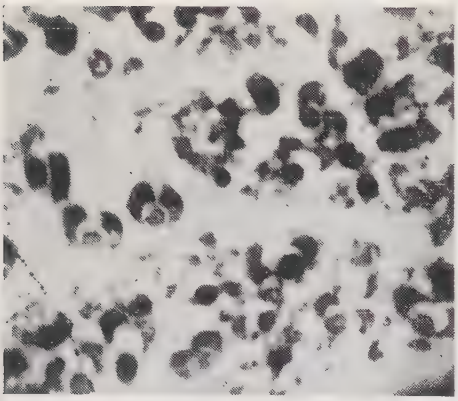


Fig. 80

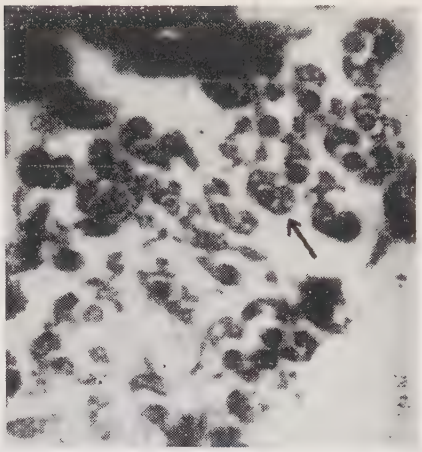


Fig. 81

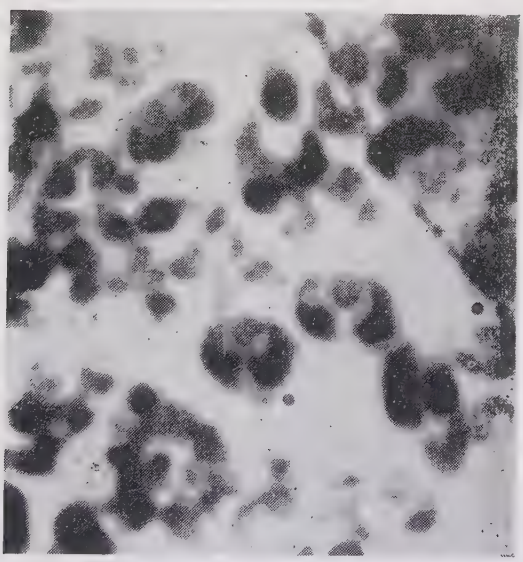


Fig. 82

ESTAMPA 16

Fig. 83: Corte transversal de flagelos de espérmios maduros, tirados da vesícula seminalis. Aumento 40 000 vêzes. Fotografado no microscópio eletrônico por H. Muth.

Fig. 84: Corte diagonal de flagelos de espérmios maduros, tirados da vesícula seminalis. Aumento 12 500 vêzes. Fotografado no microscópio eletrônico por H. Muth.

Fig. 85: Reconstrução de um corte transversal do flagelo do espérmio maduro.

Fig. 83 — Querschnitt durch die Geissel reifer Spermien, der Samenblase entnommen. Vergroesserung 40 000 fach. Fotografie im Elektronen-Mikroskop durch H. Muth.

Fig. 84 — Querschnitt durch die Geissel reifer Spermien, der Samenblase entnommen. Vergroesserung 12 500 fach. Fotografie im Elektronen-Mikroskop durch H. Muth.

Fig. 85 — Rekonstruktion eines Querschnittes durch die Geissel eines reifen Spermiums.

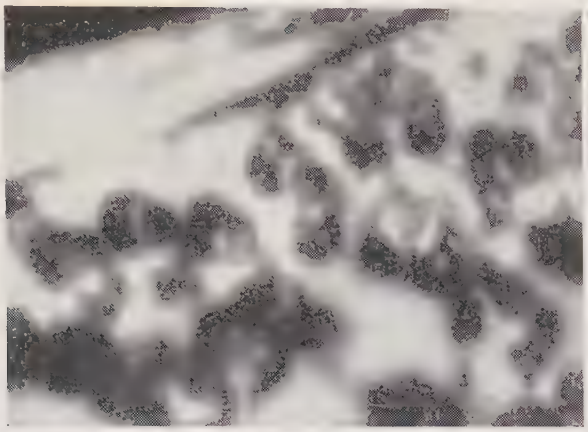


Fig. 83

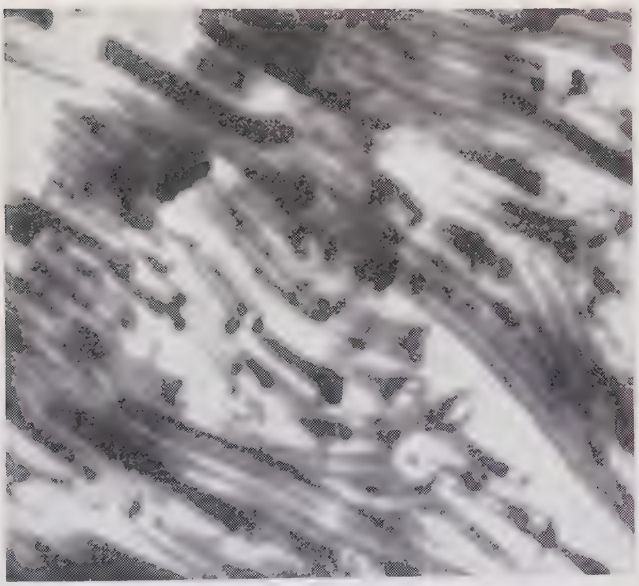


Fig. 84

Fig. 85

ESTAMPA 17

Fig. 86: Reconstrução de uma parte do flagelo do espérmio maduro, em três dimensões.

Fig. 87: Parte dilacerada do flagelo do espérmio de um ouriço do mar, composto de dois fios axiais (FA; FA) e de três grupos de fios mitocondriais contendo cada um três fios (1-3; 4-6; 7-9). Aumento 3 300 vêzes. Fotografado no microscópio eletrônico por H. Muth.

Fig. 86 — Dreidimensionale Rekonstruktion eines Teils der Geissel eines reifen Spermiums.

Fig. 87 — Dilazerierter Teil der Geissel des Spermiums eines Seeigels, zusammengesetzt aus zwei Axialfilamenten (FA;FA) and drei Gruppen von je drei mitochondrialen Filamenten (1-3; 4-6; 7-9). Vergroesserung 3 300 fach. Fotografie im Elektronen-Mikroskop durch H. Muth.

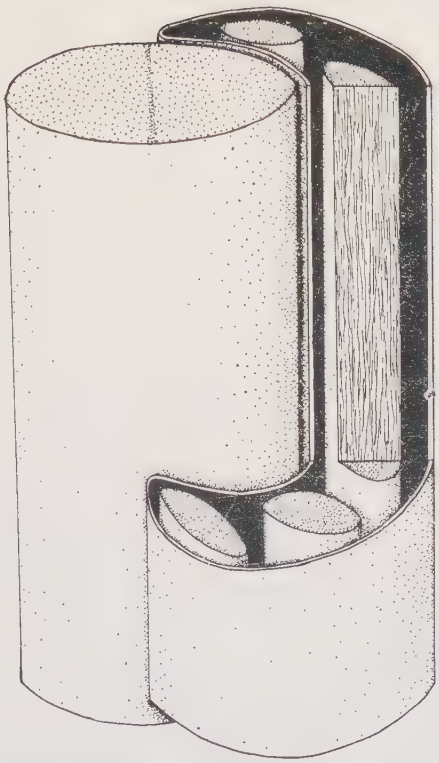


Fig. 86

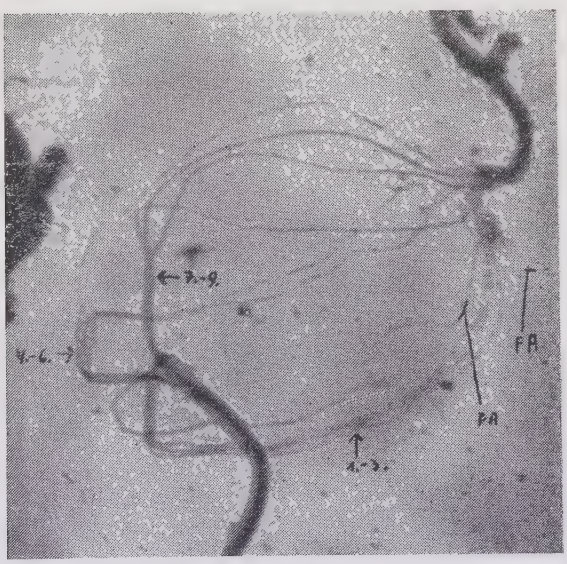


Fig. 87

Cirrose Hepática Enzoótica no Cavalo*

O. Curial e J. P. Guimarães

Em 1883, Osler (14), sugeriu pela primeira vez, a existência de uma relação causal entre a ingestão de planta da família das compostas e o aparecimento de certas lesões hepáticas que culminavam na cirrose, observadas em cavalos e bovinos no Canadá. A partir desta data, acumularam-se observações anatomo-clínicas apontando no sentido dêste nexo etiológico, enquanto que investigações experimentais confirmavam definitivamente certos membros da família das compostas como agentes eficientes na produção de lesões hepáticas (1, 3, 4, 5, 6, 8, 18, 19 e 20). As principais espécies patogênicas, das quais se tem em alguns casos provas experimentais são: *Senecio jacobaea, S. burchellii, S. latiformis, S. retrorsus* e *S. latifolius*.

Além destas, outras plantas, têm sido incriminadas, como o *Heliotropium europaeum* (2), *Amsinckia intermedia* (11), e *Crotalaria retusa* (2), as duas primeiras, borraginaceas, e a última, leguminosa, as quais apenasr de serem do ponto de vista da Sistemática, muito diferentes entre si, contêm alcaloides quìmicamente muito semelhantes aos dos Senecios.

A doença tem sido descrita na África do Sul (6, 19, 20 e 22), Austrália (13), Nova Zelândia (8), e América do Norte (11, 21), ocorrendo sob forma enzoótica e afetando indiscriminadamente gado eqüino, bovino, ovino e suíno.

Foi também descrita doença semelhante na Inglaterra, afetando o gado bovino (1, 4, 18).

Na Alemanha e outros países da Europa, tem sido descrita Cirrose hepática, ocorrendo sob forma enzoótica, em cavalos, não havendo entretanto coincidência de opiniões sôbre a sua etiologia (7, 9, 10, 15, 16).

Na literatura nacional, apenas, Carvalho e Maugé (3), relatam a ocorrência de casos de intoxicação pelo *Senecio brasiliensis*, em cavalos, tendo verificado que o *S. brasiliensis* vegetava no alfafal destinado à alimetnação dos mesmos.

---

* Trabalho realizado em parte no I.B.P.T. de Curitiba e na Divisão de Patologia do I.O.C.

Recebido para publicação em 3 de setembro de 1958.

Moraes (12), fêz o estudo químico-toxicológico da mesma espécie de *Senecio*, e menciona a possibilidade da inclusão do mesmo, na forragem destinada aos animais.

A presente comunicação, limita-se à descrição anatomo-patológica de material retirado de 12 cavalos, em que são encontradas lesões hepáticas graves.

Em três casos, as necropsias foram realizadas por um de nós (O.C.) e nos casos restantes, fragmentos de tecido foram recebidos para diagnóstico histopatológico.

O material estudado, teve a seguinte procedência: Esquadrão Independente de Cavalaria, Guarapuava, 1 caso; Haras Tranqueira, Tranqeuira, 1 caso; Coudelaria de Tindiquera, Araucaria, 2 casos; 3.º R.A.M., Boqueirão, Curitiba, 6 casos; Jockey Club de Curitiba, 2 casos.

Os fragmentos de tecidos, foram fixados em formol, e os cortes examinados após coloração pela Hematoxilina-Eosina, Tricromico de Gomori, Mac Manus (PAS), Azul da Prússia, Método de Feulgen, e, em alguns dos casos, Sudan III.

OBSERVAÇÕES

Quadro clínico — As informações clínicas, foram de regra incompletas. Todos os animais entretanto exibiram em maior ou menor intensidade, sintomas comuns que na fase terminal da doença, se caracterizaram por andar vacilante, e aparente cegueira, levando os animais quando presos, a caminharem junto às paredes do box, batendo contra as mesmas, o que causava escoriações e sufusões hemorrágicas. O animal às vêzes apresentava-se furioso, tentando romper a porta do box.

Resultado dos Exames Anatomo-patológicos — As descrições histopatológicas, se limitam ao fígado. Os outros órgãos não mostraram alterações dignas de nota. Nos casos em que o encefalo foi examinado, foi observado graus variáveis de edema e, ausência de reação inflamatória.

Caso 1 (H. 395): Material de autópsia remetido para diagnóstico. Proveniente do Jockey Club de Curitiba. Macho, Puro Sangue de Corridas, 3 anos de idade.

Exame histológico — Pronunciada alteração da arquitetura normal do órgão. Intensa fibrose. Edema. Áreas de atrofia e destruição do parenquima, contrastando com um aumento generalisado do volume das células do parenquima conservado, algumas atingindo enormes dimensões. Regeneração nodular pronunciada. Acentuada infiltração celular, constituída por linfocitos e polinucleares. É freqüente a presença de grânulos e massas de dimensões variadas, intensamente acidófilas, no citoplasma das células hepáticas cujos núcleos exibem nucleolos de diâmetro variáveis. Intensa proliferação de tubos biliares. Deposição de pequena quantidade de pigmento férrico, e algum pigmento Azul da Prússia negativo (bile?), no citoplasma das células hepáticos e células de Kupffer. Retenção biliar.

Caso 2 (H. 488): Material de autópsia remetido para diagnóstico. Proveniente de Guarapuava (1.º Esquadrão Independente de Cavalaria). Sem indicação do sexo ou idade.

Exame Histológico — Pronunciada alteração da arquitetura normal do órgão. Fibrose. O tecido fibroso neoformado, é denso e pobre em núcleos, infiltrando e dissociando o parenquima. Áreas de atrofia e destruição do parenquima, contrastando com um aumento generalisado do volume das células do parenquima conservado, algumas atingindo enormes dimensões. Regeneração nodular acentuada. Escassa infiltração linfocitária. Pigmento férrico é extremamente abundante nas células hepáticas, células de Kupffer e histiocitos. É freqüente a presença da grânulos e massas de dimensões variadas, intensamente acidófilas, no citoplasma das células hepáticas cujos núcleos exibem nucleolos muito aumentados e a presença ocasional de vacuolos de diâmetros variaveis. Retenção biliar, observada em áreas circunscritas. Presença de áreas de êstase sanguíneas. Proliferação moderada de tubos biliares.

Caso 3 (H. 493): Necropsia realizada por O.C. Proveniente de Haras Tranqueira (Tranqueira, Paraná). Macho, Puro Sangue de Corridas, 2 anos.

Diagnóstico anatomico — Hemorragias puntiformes sub-capsulares no baço. Tumefação nos ganglios linfáticos mesentericos. Líquido peritoneal ligeiramente aumentado. Área de enfisema molhoso no ápice do lobo anterior do pulmão esquerdo; diversos infartos hemorrágicos no mesmo lobo. Congestão histopática no pulmão direito. Esclerose e ictericia hepaticas; numerosos nodulos de regeneração medindo 1 a 5 mm. Capsulas renais destacando-se com dificuldade. Diversos hematomas e sufusões hemorragicas na mucosa do ceco e colon. Escoriações e sufusões hemorragicas no tecido conjuntivo sub-cutâneo da cageça e paletas. Verminose intestinal (*Parascaris* sp.).

Exame histologico — Pronunciada alteração da arquitetura normal do órgão. Fibrose acentuada. Edema. Áreas de atrofia e destruição do parenquima, contrastando com um aumento generalisado do volume das células do parenquima conservado, algumas atingindo enormes dimensões. Os núcleos destas células exibem nucleolos muito aumentados e a presença ocasional de vacuolos de diâmetro variável. Acentuada regeneração nodular. Acentuada infiltração celular. Granulos e massas acidofilas no citoplasma, são encontrados com pouca frequencia. Proliferação de tubos biliares. Retenção biliar. Pequena deposição de pigmento ferrico em celulas hepaticas e celulas de Kupffer.

Caso 4 (H. 507): Necropsia realizada por O.C. Proveniente do Quartel do 3.º R.A.M. (Boqueirão, Curitiba). Fémea.

Diagnóstico Anatomico — Congestão dos ganglios linfáticos. Hemorragias puntiformes sub-capsulares no baço. Hemorragias na sub-epicardio e no endocardio. Habronemose gastrica (nodulo medindo 1 cm de diamtro, no limite do epitelio estratificado com o glandular).

Hiperemia na mucosa do ceso e grande colon. Esclerose e ictericia hepaticas. Numerosos nodulos de regeneração no parenquima hepatico, medindo em geral 1 mm de diometro. Capsulas renais, destacando-se com dificuldade. Hipostase no rim direito. Enfisema bolhoso na porção anterior do lobo anterior de ambos pulmões. Diversos infartos hemorragicos, congestão e edema no lobo posterior do pulmão direito.

Exame Histologico — Pronunciada alteração na arquitetura normal do órgão. Edema. Áreas de atrofia e destruição do parenquima, contrastando com um aumento generalisado do volume das células do parenquima conservado, algumas atingindo enormes dimensões. Os núcleos destas célulos exibem nucléolos muito aumentados e a presença ocasional de vacúolos de diâmetro variável. Regeneração nodular. Pequena infiltração celular. Esteatose, limitada a áreas. Retenção biliar. Proliferação de tubos biliares. Deposição de pigmento férrico e pigmento Azul da Prussia negotivo, nas células hepáticas e células de Kupffer.

Caso 5 — (H. 574); Material de autópsia enviado para diagnóstico. Proveniente do Quartel do 3.º R.A.M. (Boqueirão, Curitiba). Sem indicação do sexo ou idade.

Exame histológico — Pronuciada alteração do estrutura normal do órgão. Intensa fibrose. Edema. Áreas de atrofia e destruição do parenquima, constratando com um aumento generalisado do volume das células do parenquima conservado, algumas atingindo enormes dimensões. Os núcleos destas células exibem nucleolos muito aumentados e a presença ocasional de vacuolos de diâmetro variável. Regeneração nodular. Escassa infiltração celular. Áreas de estase sangüínea, com atrofia das traves hepáticas e formação de lagos sangüíneos. Acentuada retenção biliar. Grande número de células hepáticas apresenta granulos e massas intensamente acidófilas, no citoplasma. É encontrada grande quantidade de pigmento pardo-amarelo nas células de Kupffer e células hepáticas. Apenas uma pequena parte dêsse pigmento, dá positiva a reação para ferro. A regeneração de tubos biliares, é pouco intensa.

Caso 6 — (H. 580); Necrópsia realizada no O.C. Proveniente do Quartel do 3.º R.A.M. (Boqueirão, Curitiba), Macho (castrado), idade aproximada 18 anos.

Observação: foi sacrificado na fase final da doença.

Diagnóstico anatômico — Transformação gelatinosa do tecido gorduroso. Hemorragias puntiformes, sub-capsulares no baço. Tumefação dos gânglios linfáticos. Ligeiro aumento do líquido peritoneal. Congestão e edema no pulmão esquerdo. Enfisema no lobo anterior e edema no lobo posterior do pulmão direito. Fígado esclerosado, de côr parda, com diversas hemorragias equimóticas. Equimoses na mucosa da bexiga. Edema da parede do ceco e grande colon. Hiperemia no encéfalo.

Exame histológico — Pronunciada alteração da estrutura normal do órgão. Fibrose. Intensa regeneração nodular. Há um aumento ge-

neralisado no volume das células nas áreas do parenquima conservado, atingindo algumas enormes dimensões. Os núcleos destas células exibem nucleolos muito aumentados e a apresentação ocasional de vacuolos de diâmetro variável. Intensa deposição de pigmento férrico nas células hepáticas e células de Kupffer. Os tubulos biliares proliferados, formam nódulos no parenquima. Granulos e massas citoplasmáticas, são encontrados ocasionalmente.

Caso 7 — (H. 600); Material de autópsia remetido para dignóstico. Proveniente da Coudelaria Tindiquera (Aaraucaria, Paraná), de propriedade do Exército. Fêmea, Bretão Postier, 10 anos de idade.

EExame histológico — Pronunciada alteração da estrutura normal do órgão. Fibrose geralmente limitada aos espaços porta. Edema. Áreas de atrofia e destruição do parenquima, contrastando com um aumento generalisado do volume das células do parenquima conservado, algumas atingindo enormes dimensões. Os núcleos destas células exibem nucleolos muito aumentados e a presença ocasional de vacuolos de diâmetro variável. Regeneração nodular intensa. Escasso infiltrado celular. Esteatose ligeira. Deposição de pigmento férrico nas células de Kupffer e em algumas células hepáticas. Granulos e massas acidófilas citoplasmáticos, são encontrados ocasionalmente. Estase sengüínea limitada a áreas, com dilatação dos sinusoides e atrofia das traves. Proliferação tubular.

Caso 8 — (H. 605); Material de autópsia remetido para diagnóstico. proveniente do Jockey Club de Curitiba. Fêmea, Puro Sangue de Corridas, 13 anos de idade.

Exame histológico — Autolise avançada. Pronunciada alteração da estrutura normal do órgão. Intensa fibrose. Intensa regeneração nodular. Áreas de atrofia e destruição do parenquima. Deposição de pequena quantidade de pigmento férrico.

Caso 9 — (H. 687); Material de autópsia remetido para diagnóstico. Proveniente da Coudelaria de Tindiquera (Araucaria, Paraná), de propriedade do Exército. Fêmea, Bretão Postier, 14 anos de idade.

Exame histológico — Pronunciada alteração da estrutura normal do órgão. Fibrose portal. Áreas de atrofia e destruição do parenquima, contrastando com um aumento generalisado do volume das células do parenquima conservado, algumas atingindo enormes dimensões. Os núcleos destas células exibem nucleolos extremamente aumentados, e às vêzes, vacuolos de diâmetros variáveis. Intensa regeneração nodular. Escassa proliferação de tubos biliares. Deposição de pigmento férrico nas células hepáticas, células de Kupffer e histiócitos. Deposição de pigmento Azul de Prússia negativo, em raras células hepáticas. Granulos e massas acidófilas citoplasmáticas são encontrados acasionalmente. Retenção biliar.

Caso 10 — (P.C. 21.409); Material de autópsia remetido para diagnóstico. Proveniente do Quartel do 3.º R.A.M. (Boqueirão, Curitiba), Macho.

Exame histológico — Pronunciada alteração da estrutura normal do órgão. Fibrose. Edema. Áreas de atrofia, e destruição do parenquima, constrastando com um aumento generalisado do volume das células do parenquima conservado, atingindo algumas delas, enormes dimensões. Os núcleos destas células exibem nucleolos extremamente aumentados. Infiltração de células linfocitárias, às vêzes formando nodulos. As células hepáticas nas áreas periportais, mostram rarefação do citoplasma. Escasso pigmento férrico nas células hepáticas, células de Kupffer e histiócitos. Retenção biliar.

Observação — Recebeu bi-sulfeto de Carbono, 8 dias antes da morte.

Caso 11 — (P.C. 21.410); Material de autópsia, remetido para diagnóstico. Proveniente do Quartel do 3.º R.A.M. (Boqueirão, Curitiba). Fêmea.

Exame histológico — Pronunciada alteração da estrtura normal do órgão. Acentuada fibrose. Edema. Áreas de atrofia e destruição do parenquima, contrastando com um aumento generalisado do volume das células do parenquima conservado. Intensa regeneração nodular. Os núcleos destas células exibem nucleolos extremamente aumentados. Infiltração celular intensa. Células hepáticas em focos esparsos mostram rarefação do citoplasma. Escasso pigmento férrico, nas células hepáticas, células de Kupffer e histiócitos.

Observação — Recebeu bi-sulfeto de Carbono, 8 dias antes da morte.

Caso 12 — (P.C. 21.411); Material de autópsia remetido para diagnóstico. Proveniente do Quartel do 3.º R.A.M. (Boqueirão, Curitiba). Macho.

Exame histológico — Pronunciada alteração da estrutura do órgão. Intensa fibrose. Edema. Áreas de atrofia e destruição do parenquima contrastando com um aumento generalisado do volume das células do parenquima conservado. Os núcleos destas células exibem nucleolos extremamente aumentados. Intensa regeneração nodular. Abundante infiltração celular. Esteatose ligeira. Ligeira retenção biliar. Numerosas células mostram rarefação do citoplasma. Deposição de pigmento férrico em células hepáticas, células de Kupffer histiócitos. Granulos e massas acidófilas são encontrados ocasionalmente.

Observação — Recebeu bi-sulfeto de Carbono 8 dias antes da morte.

DISCUSSÃO

Uma análise das alterações observadas no fígado, dos 12 casos estudados, as quais estão resumidas no quadro I, revela a existência de um quadro anatomo-patológico mais ou menos constante, sugerindo a interferência de um agente etiológico comum, na determinação do processo mórbido.

Assim, encontramos sempre, atrofia e destruição do parenquima associada à regeneração nodular intensa, com pronunciado aumento de

volume das células sobreviventes. Proliferação do tecido conjuntivo, inicialmente portal e posteriormente intra-lobular, associada a edema e infiltrado inflamatório de intensidade variável; deposição de pigmento férrico e retenção biliar; presença de granulos e massas acidófilas no citoplasma das células hepáticas e vacuolos intra-nucleares, são os outros elementos histológicos que compõe o quadro.

Alguns aspectos acima referidos merecem especial consideração, já que para alguns autores (2), constituem evidência de intoxicação pelos alcalóides das plantas referidas no início dêste trabalho.

Entre êstes destaca-se o aumento de volume celular, fenômeno que Bull denomina megalocitose, e que era constante em nosso material. Embora sem concordar com êste autor quanto ao valor patognomônico dêste achado, já que outros agentes podem determinar gigantismo celular no fígado de mamíferos (irradiação, tiocetamida, etc.) sua presença em fígado cirrótico de gado cavalar, bovino, etc., é altamente sugestivo da participação dos referidos alcalóides na produção da moléstia. Mais ainda se robustece esta suspeita, em vista de outras alterações presentes no nosso material, idênticas aquelas observadas em intoxicações experimentais com o senecio, tais como a presença de massas e grânulos hialinos no citoplasma, a vacuolisação intranuclear predominante em elementos celulares gigantes e a proliferação dos elementos tubulares e conjuntivos.

A administração anual de bi-sulfeto de carbono, obrigatória nos quartéis e coudelarias do Exército, seria por si só insuficiente para a determinação do processo patológico estudado nesta comunicação, muito embora possa ter concorrido para o agravamento das lesões. Note-se ainda que em três casos provenientes do Jockey Club de Curitiba e de Tranqueira, os animais jamais receberam aquela droga.

RESUMO E CONCLUSÃO

As lesões histopatológicas observadas no fígado de 12 cavalos de procedências diversas, descritas neste trabalho, sugerem a interferência de um mesmo agente etiológico, possìvelmente uma intoxicação crônica provocada pela infestão de vegetais do gen. *Senecio* ou de plantas contendo alcalóides afins.

Nota: — Já estava redigido o presente trabalho, quando deparamos com o artigo de Vanek (Vanek, J., 1958), Vergiftung mit Kreuskraut (*Senecio*) als ursache der Zdárer Pferdseuche. — Schveiz. Z. Allg. Path. Bakt., *21*:821-848), onde o autor, baseado em dados clínicos, anatômicos, botânicos, toxicológicos e experimentais, conclui que a doença dos cavalos de Zdar é devida a uma intoxicação crônica pelos alcalóides do *Senecio erraticus* ssp. *barbaraeifolius*.

As alterações histopatológicas descritas no referido trabalho, coincidem com as observadas nos nossos casos.

QUADRO I

NÚMERO DO CASO	Destruição e atrofia do parenquima	Infiltração inflamatória	Regeneração nodular	Degeneração hialina plasmática	Gigantismo celular	Fibrose	Prolifeção túbulo-biliar	Retenção biliar	Pigmento férrico	Esteatose
Caso 1 (H. 395)	++	+++	++	+++	+++	++++	++++	++++	+	+
Caso 2 (H. 488)	+++	+	+++	+++	+++	++	++	+	++++	+
Caso 3 (H. 493)	+++	+++	++	++	++++	+++	+++	+++	++	—
Caso 4 (H. 507)	++	++	++	—	++	++	++	++	++	+++
Caso 5 (H. 574)	++	++	+++	++++	+++	++++	++	+++	+	—
Caso 6 (H. 580)	++++	—	++++	+	+	++	++++	—	++++	—
Caso 7 (H. 600)	+++	+	++++	+	+	+++	++	—	++	++
Caso 8 (H. 605)	++++	—	++++	—	—	++++	—	—	+	—
Caso 9 (H. 687)	++++	—	+++	+	+	++	++	+	++	+
Caso 10 (PC. 21 409)	+ +	++	++	—	+	+++	—	+++	++	+
Caso 11 (PC. 21 410)	++	+++	++	—	+	+++	—	—	++	++
Caso 12 (PC. 21 411)	++	+++	+	+	+	++++	—	++	++	+++

BIBLIOGRAFIA

1) Betty, R. W., Markson, L. M. (1954) — Liver biopsy in the diagnosis of ragwort (Senecio Jacobea) poisoning in a herd of cattle — Vet. Rec., 66: 398-400.

2) Bull, L. B. (1955) — The histological evidence of liver damage from pyrrolizidine alkaloids — Austr. Vet. Jour., 31: 33-40.

3) Carvalho, G. S. T. de, Maugé, G. C. (1946) — Ação tóxica do "Senecio brasiliensis", Lessing. Fam. Compositae — Rev. Fac. Med. Vet., São Paulo, 3: 131-136.

4) Cockburn, R. S., Eaton, G., Hudson, J. R., Morgan, K. G., Wood, E. C., Worden, A. N. — Acute poisoning of cattle by common ragwort. (Senecio jacobae, L.) — Vet. Rec., 67: 640.

5) Craig, J. F., Kearney, W., Timoney, J.F. (1930) — Ragwort poisoning in cattle, and cirrhosis of the liver in horses — Vet. Rece., 10: 159-174.

6) De Kock, G., Du Toit, P. J., Steyn, D. G. (1931) — Studies on the aetiology of dunsiekte or Enzootic Liver Disease of Equines in South Africa — 17th Rep. Direct Vet. Serv. Anim. Indust., Union S. Africa. Part 2, pp. 617-644.

7) Engelhardt, H. (1934) — Bietrag zur Hepatitis interstitilialis chronica equorum. — prag. tierärztl. Arch., 14: 221-225. (resumo in Vet. Bull., 5:579).

8) Gilruth, J. A. (1903) — Eleventh Rep. Dept. Agric., N.Z., Apêndice V — pp. 228-279 (in Bull, L. B., 1955).

9) Herrling, H. (1952) — Ein Beitrag zur Frage der Leptospirose bei Grostieren unter besonderer Berücksichtigung eines Falles der Schweinsberg Krankheit der Pferd. — Munch. Vet Med., 7:110-112 (resumo in Vet. Bull., 22:615).

10) Lukes, J., Cech, K. (1948) — (The Zd'ar disease in South Boemia) — Cas. ceskoslovensk — Vet., 3: 367-384 (resumo in Vet. Bull., 20: 464).

11) McCulloch, E. C. (1940) — Hepatic cirrhosis on horses, swines and cattle due to the ingestion of seeds of the tarwed, Amsinckia intermedia — Jour. Am. Vet. Med. Ass., 96: 5-18.

12) Moraes, E. C. Fonseca (1951) — Contribuição ao estudo químico-toxicológico do Senecio — Anais Fac. Farm. Odont. Univ. São Paulo, 9: 85-122.

13) Murnane, D., Ewart, A. J. (1928) — Kimberley Horse disease — Bull., 38, Council for Sci. Indust. Res., Commonwealth of Australia (in De Kock e col., 1931).

14) Osler, W. M. (1883) — Report on Pictou disease investigation — Veterinarian, 56: 478. (in Moraes, E. C. F., 1951).

15) Pokorny, B. (1949) — (Serological examinations of horses affected with Zd'ar disease). — Cas. ceskoslovensk. Vet., 4: 345-355 (resumo in Vet. Bull., 20: 465).

16) Robin, V. (1945) — L'Encéphalose hépatique du cheval — Rec Med. Vet., 121: 33-49 (resumo in Vet. Bull., 17: 195).

17) Shoental, R., Magee, P. N. (1957) — Chronic liver changes in rats after a single dose of losiocapine, a pyrrolozidine (Senecio) alkaloid — Jour. Path. Bact., 74: 305-319.

18) Stockman, S. (1917) — Poisoning of cattle with British ragwort — J. Comp. Path., 30: 131-134.

19) Theiler, A. (1918) — Acute liver atrophy and parenchymatous hepatitis in horses. 5th and 6th Repts. of Dir. Vet. Res., Union S. Africa, pp. 7-164.

20) Theiler, A. (1918) — Dunsiekte in South African Horses (Enzootic liver cirrhosis) — 7th and 8th Repts. of Dir. Vet. Res., Union S. Africa, pp. 105-179.

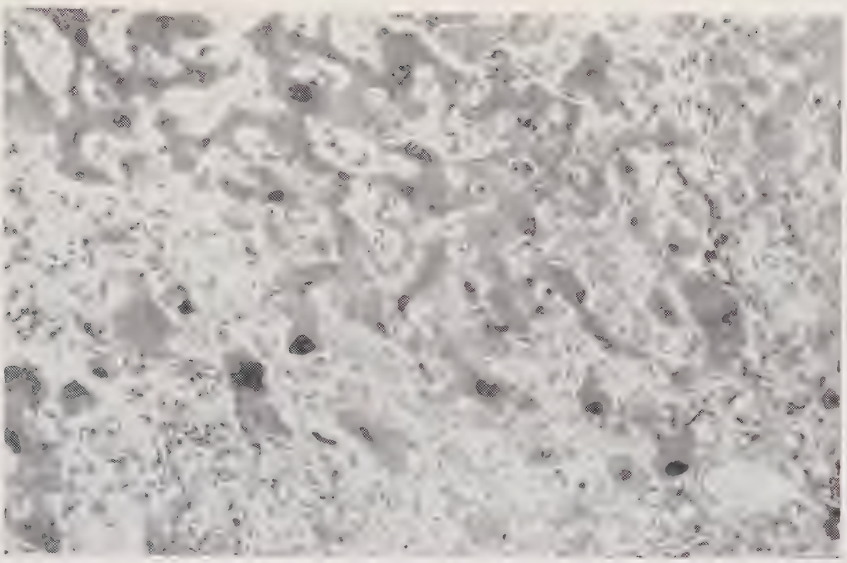
21) Vanes, L., Cantwell, L. R., Martin, H. M., Kramer, J. (1929) — On the nature and cause of the "walking disease" of Northwestern Nebraska — Nebr. Agr. Exp. Eta., Res. Bull., 43 (in De Kock e col., 1931).

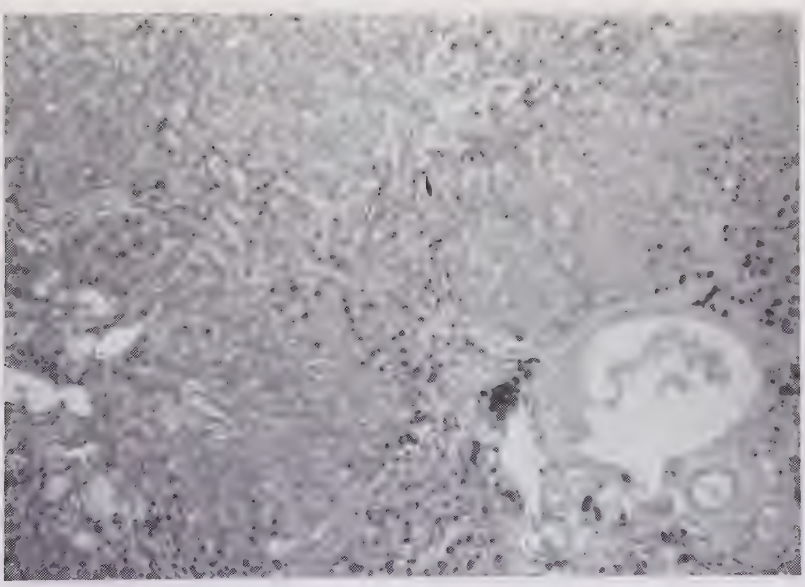
22) Verney, F. A. (1911) — Dunsickness — J. Comp. Path. Therap., 24: 226-229.

ESTAMPA 1

Fig. 1 — Fígado. Área de destruição e atrofia do parenquima com tecido conjuntivo infiltrando e dissociando as traves hepáticas. Aumento de volume das células hepáticas conservadas. Hematoxilina-eosina. 100 X.

Fig. 2 — Fígado. Nódulos de regeneração. Pigmento férrico depositado de preferência nas células do parenquima primitivo conservado e no tecido intersticial. Método do Azul da Prússia. 25 X.



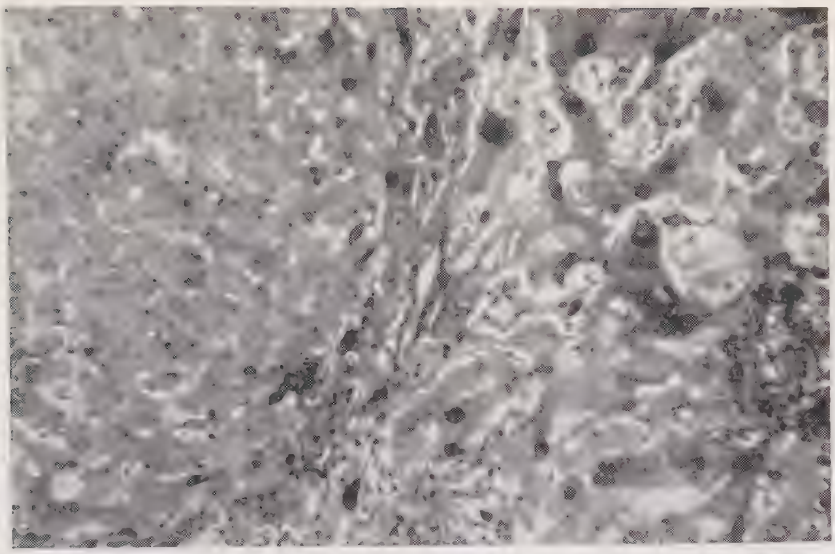


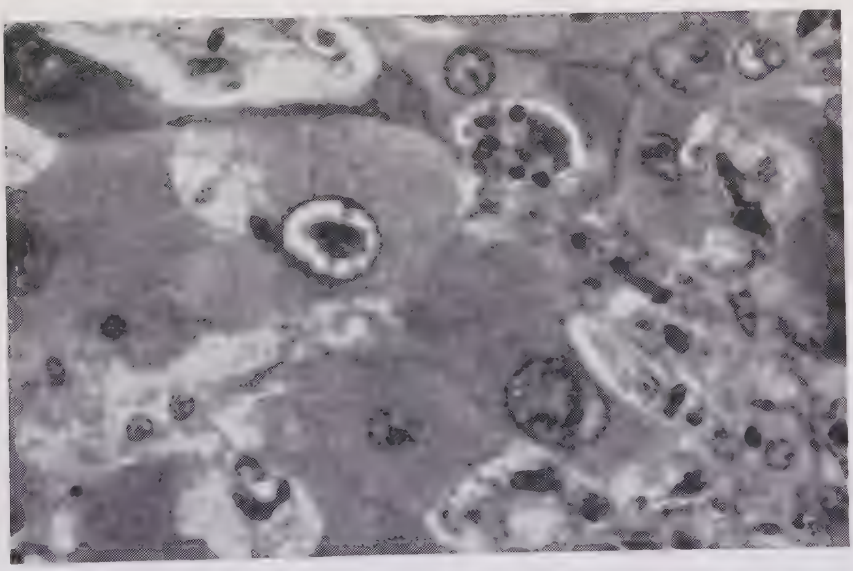
ESTAMPA 2

Fig. 3 — Fígado. Zona limítrofe entre parenquima primitivo exibindo atrofia e megalocitose e nódulo de regeneração. Hematoxilina-eosina. 100 X.

Fig. 4 — Fígado. Megalocitose. Uma célula hepática exibe um vacúolo intranuclear. Hematoxilina-eosina. 450 X.

ESTAMPA 2

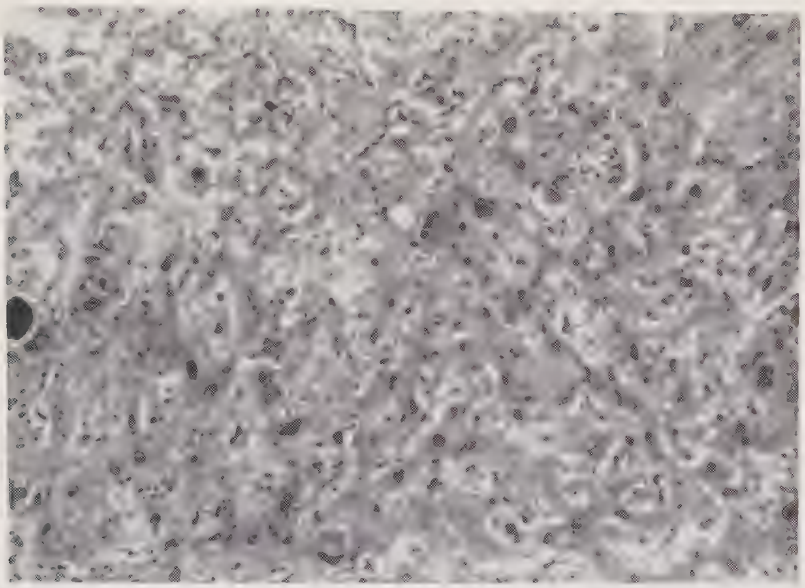


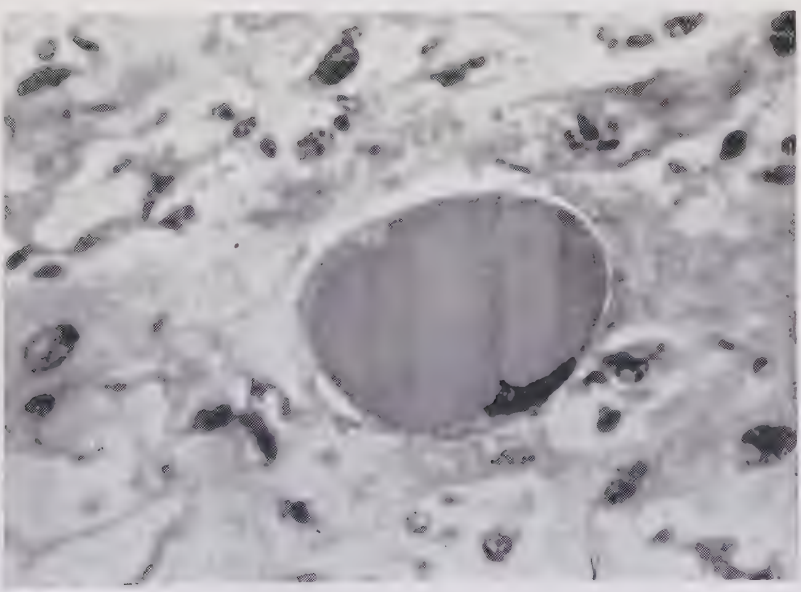


ESTAMPA 3

Fig. 5 — Fígado. Glóbulos hialinos de diferentes tamanhos são vistos no citoplasma de várias células parenquimatosas. P.A.S. 100 X.

Fig. 6 — Fígado. Glóbulo hialino ocupando todo o citoplasma e recalcando o núcleo. P.A.S. 100 X.

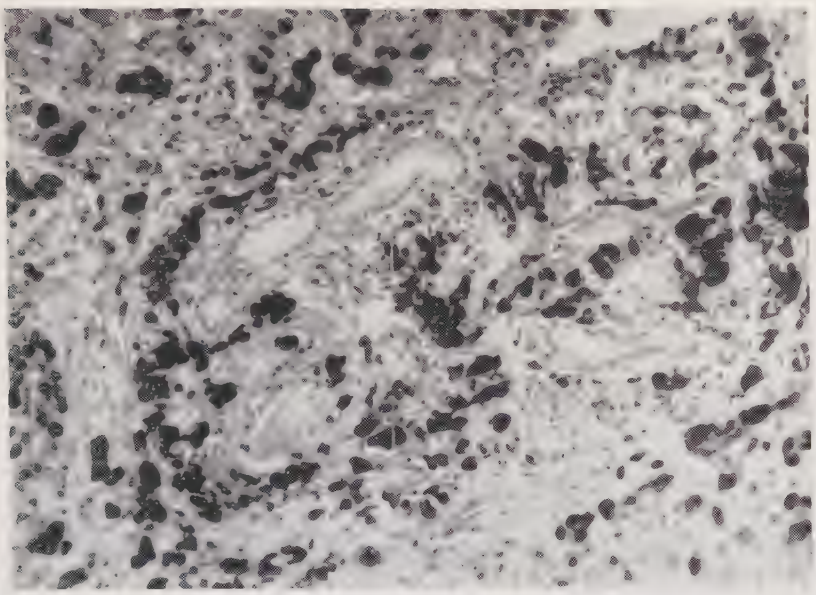


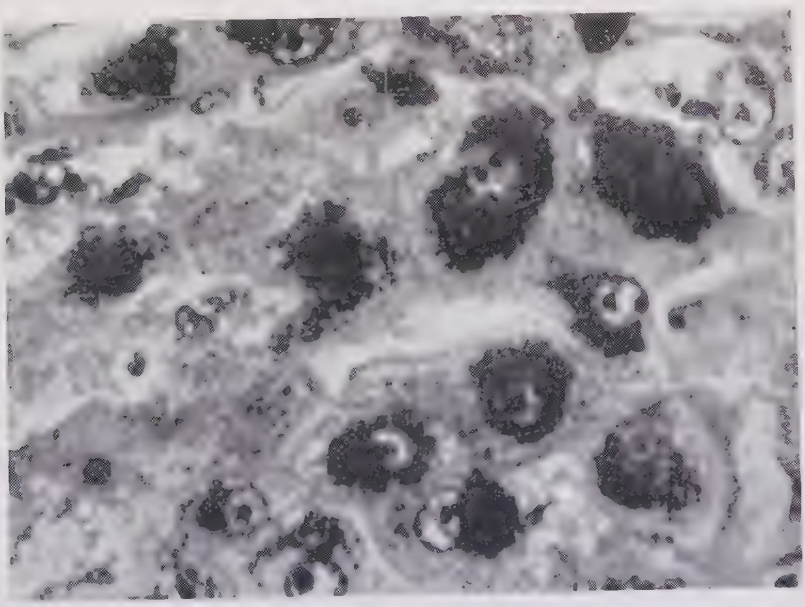


ESTAMPA 4

Fig. 7 — Fígado. Intensa deposição de ferro no tecido intersticial. Nota-se também proliferação de canalículos biliares. Método do Azul da Prússia. 100 X.

Fig. 8 — Fígado. Pronunciada deposição de ferro no citoplasma das células hepáticas. Método do Azul da Prússia. 450 X.

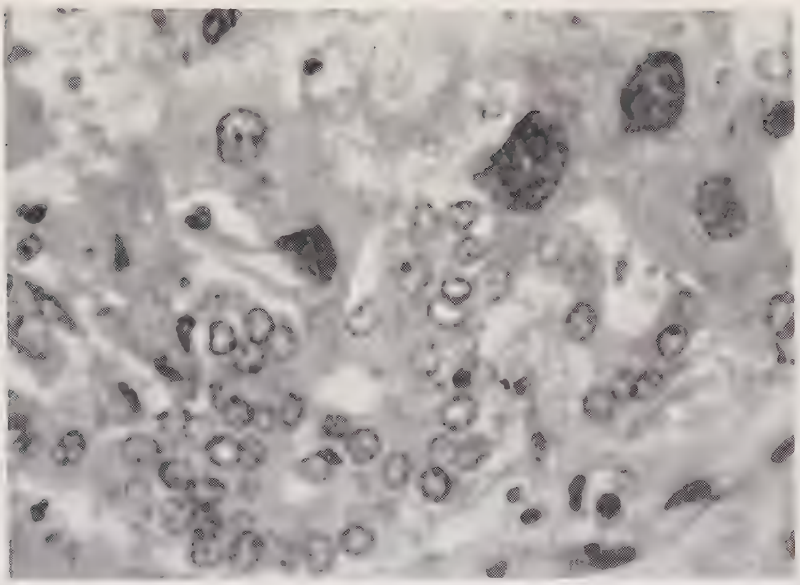


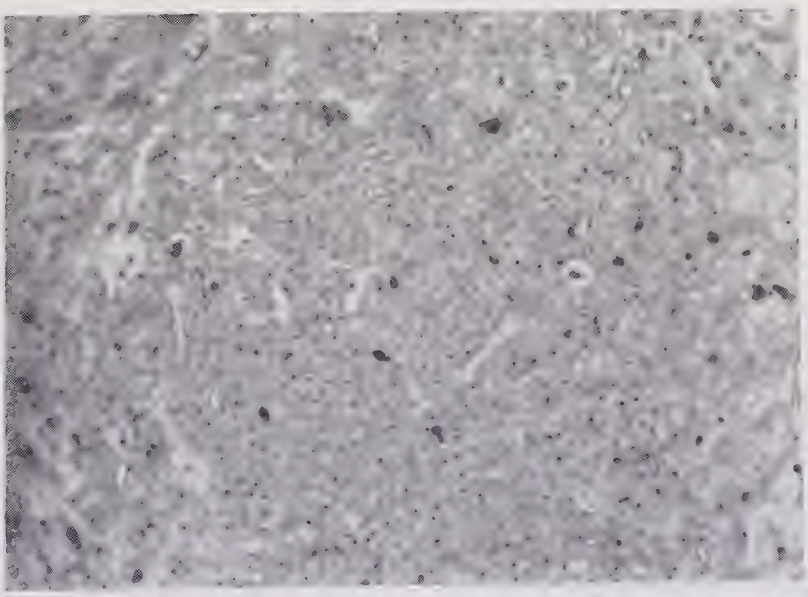


ESTAMPA 5

Fig. 9 — Fígado. Zona de transição entre células parenquimatosas e células canaliculares proliferadas. É evidente o aumento de volume nuclear e nucleolar das células hepáticas. Hematoxilina-eosina. 450 X.

Fig. 10 — Fígado. Acentuada retenção biliar.





Contribuição ao estudo dos Embiídeos

IV. Polimorfismo sexual da região cefálica de Embolyntha batesi Mac Lachlan, 1877 (Embiidina, Embiidae).(*)

por
Dyrce Lacombe

(com 25 figuras no texto)

I — INTRODUÇÃO

Em continuação à série de estudos que estamos realizando nos Embiídeos, achamos interessante anotar as grandes diferenças anatômicas da região cefálica e partes bucais, que encontramos ao fazermos um estudo comparado entre machos e fêmeas de *Embolyntha batesi*. (As figuras do macho e da fêmea encontram-se na página 395).

Estas diferenças morfológicas são resultantes, provàvelmente, do modo de vida que ambos os sexos possuem, estando ligadas, portanto, a sua Ecologia, constituindo problema deveras interessante, principalmente, porque pouco se conhece a respeito dêste grupo, neste setor.

Ao realizarmos, anteriormente, um estudo anatômico e histológico sôbre o aparêlho digestivo da fêmea desta mesma espécie, referimo-nos, sem, porém, entrarmos em pormenores, às suas partes bucais, não sendo mesmo possível naquela época uma observação mais minuciosa. A falta de exemplares machos, para um estudo comparado, não nos permitia a conclusão do trabalho que estava em andamento.

O material presente foi coletado em Itatiaia, e as técnicas usadas não constituem novidade em Anatomia e Histologia. Os fixadores mais empregados foram os seguintes: Flemming, Bouin modificado por Duboscq-Brasil, Gilson e Helly. As colorações feitas foram: hematoxilina férrica segundo Heidenhain, hematoxilina segundo Delafield, vermelho-Congo-orange G.G. e kernechtrot. O material foi incluído em parafina com borracha e cortado a 5μ e 7μ. Nas observações das peças bucais e suturas do crânio, usamos uma técnica nova, introduzida na Histologia por Barth (no prelo), e que consiste em uma diafanização e posterior coloração.

* Trabalho feito sob os auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas.
Recebido para publicação em 5-9-1958.

II — ANATOMIA DA CABEÇA

A cabeça dos insetos é formada por uma série de escleritos, que ao se unirem, constituem as denominadas suturas. Estas se apresentam visíveis ou não nas diferentes ordens. De tôdas as partes do corpo dos Embiídeos, o crânio é a região mais reforçada, devido à sua importante função, qual seja a de proteger os principais centros do sistema nervoso. A região cefálica dos machos e fêmeas diferem muito entre si; quanto ao tamanho, espessura da cutícula, coloração, tipo de crânio etc., como veremos a seguir.

Em ambos os sexos a cabeça é prognata. A relação existente entre os diâmetros antero-posterior e transverso, e, ainda, a maior ou menor expansão das genas dão origem a dois tipos de crânio.

As fêmeas, devido a dilatação das genas, possuem a cabeça mais achatada, enquanto que nos machos esta é alongada e menor. O diâmetro transverso do crânio das fêmeas é de 1,7 mm e o longitudinal 1,8 mm. Seu aspecto muito se assemelha aos de Dermaptera. A pigmentação não é tão densa, deixando ver algumas zonas mais claras.

Nos machos o diâmetro transverso é de 1,4 mm e o longitudinal 1,9 mm. Fazendo-se o índice, temos comprimento: largura = I, I da fêmea = 1,06; I do macho = 1,36.

A cabeça é alongada, bem pigmentada, e no inseto adulto quase negra. Em ambos os sexos a cápsula craniana é muito cuticularizada, deixando transparecer, levemente, nas fêmeas a linha em forma de λ e outras suturas mais. Revestindo todo o crânio encontramos diminutas cerdas espalhadas sem ordem por tôda a região.

A cabeça dos machos além de ser mais frágil que a das fêmeas, não apresenta, visível, a sutura λ que se encontra encoberta por densa coloração. A diferença morfológica do crânio entre os dois sexos de *Embolyntha batesi* é devido ao aumento das genas e expansão da fronte.

Em ambos os sexos podemos, com relativa facilidade, observar as diversas suturas que resultam da fusão dos escleritos. As suas origens filogenéticas levantaram muitas discussões, que deixaremos de mencionar, uma vez que só desejamos estudar a Anatomia e Microanatomia de tôda a região cefálica citando, apenas, as principais suturas encontradas nêste inseto.

Nas fêmeas as suturas são mais visíveis devido ao tamanho e côr da cabeça. A linha epicranial (Fig. 1, SC) é mais nítida nas fêmeas que nos machos. É uma linha contínua, quase reta, que se estende da região do vertex até a fronte. Partindo desta sutura, em alturas diferentes, temos dois ramos, que se dirigem para as regiões laterais em direção às antenas: são as suturas post-frontais (SPF). A sutura frontal visível nos insetos holometabólicos, não foi identificada nos Embiídeos. As post-frontais, também, são encontradas nos *Dermaptera, Phasmida* e outros insetos. O ramo direito da sutura post-frontal tem início na coronal acima do ramo esquerdo e, ambos terminam entre as antenas

e os olhos (Fig. 1, ANT e OC). Estas duas suturas podem ser constatadas, fàcilmente, na forma larvária e em fêmeas adultas, pois que nos machos adultos não são visíveis. Ainda, na zona dorsal, notamos uma outra sutura, mais nítida nos machos que nas fêmeas; é a sutura temporal (Fig. 2, ST). A sutura temporal separa o vertex das genas, na região dorsal, e as genas das sub-genas, na região posterior. Têm início na parte dorsal da sutura ocular, sendo paralela ao eixo maior da cabeça e, estendendo-se na região posterior, onde termina, próximo à inserção das mandíbulas.

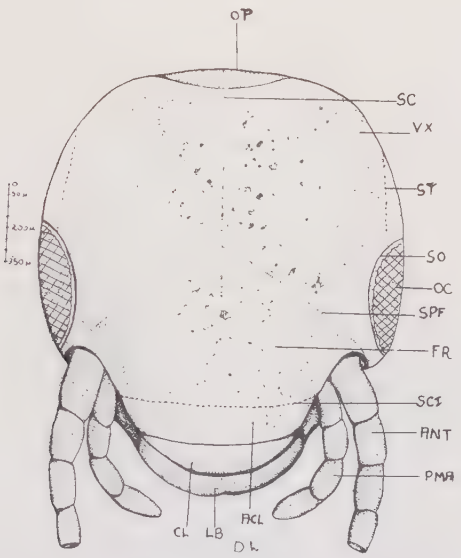


Fig. 1: Cabeça de fêmea vista dorsal
Fig. 1 — Kopf des Weichens von oben gesehen.

Nos machos a sutura temporal é mais acentuada, formando um estreito sulco na região da cabeça, entre o vertex e as genas. Esta pequena diferença de plano é responsável pelo aspecto morfológico da cabeça dêstes. O sulco projeta-se para dentro da cavidade do crânio indo fazer parte do esqueleto interno da cápsula craniana.

Seguindo-se à região do vertex (VX) temos a fronte (FR). Nos machos é mais alongada, contribuindo assim para o formato da cabeça. A fronte está limitada nas fêmeas, anteriormente, pelas suturas post-frontais (nos machos não se vê êste limite), e, posteriormente, pela sutura clípeo- fronte (SCI).

Notamos a ausência dos ocelos nos dois sexos.

O clípeo apresenta-se dividido por uma fina estrutura, em post-clípeo e anti-clípeo. A sutura clípeo-fronte é uma linha, que se estende entre as duas antenas (Fig. 2, SCI). Nas larvas esta sutura é mais nítida que nos adultos.

Na extremidade da região ventral do clípeo, a sutura clípeo-fronte forma um refôrço que, provàvelmente, serve de inserção para o braço anterior do tentório. Além disto, esta sutura apresenta-se em um plano mais baixo que a da fronte. Após o clípeo, a cutícula forma uma dobra denominada labro (LB). Êste varia nos dois sexos. Nos machos é mais alongado, estreito e um pouco abaulado, tendo na extremidade da linha mediana um pequeno sulco. A sutura clípeo-labro, em ambos os sexos, é bem pronunciada (SCL). A articulação do labro é, parcialmente, recoberta pelo anteclípeo. Tôda a região da cabeça, inclusive o labro, é revestida de pequenas cerdas. Ainda, dorsalmente, encontramos duas estreitas suturas, que servem para inserção do ramo anterior dorsal do tentório ficando, portanto, situadas atrás das mandíbulas; são as suturas epistomais, que se estendem entre os dois braços do tentório.

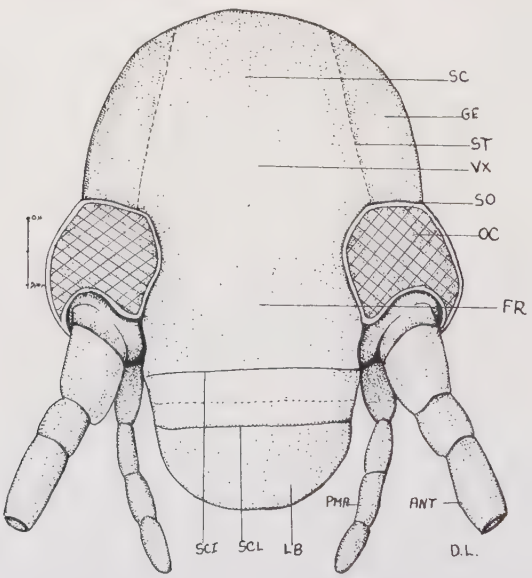


Fig. 2: Cabeça de macho vista dorsal
Fig. 2 — Kopf des Maennchens von oben gesehen.

A sutura ocular (OC) é mais destacada nos machos que nas fêmeas. Obedecendo ao formato dos olhos está representada por uma linha forte que contorna os olhos compostos. Nas fêmeas, êstes são pequenos, achatados e ovais, não se sobressaindo muito. Nos machos são reniformes, com a concavidade voltada para a região anterior lateral da cabeça, formando dois órgãos em alto relêvo. Devido à sua forma e posição temos a impressão, quando olhamos de cima, que êstes envolvem a base das antenas, imagem esta que não corresponde a verdade.

Abaixo da sutura ocular encontramos a sutura antenal.

Analisando o crânio, ventralmente, observamos outras suturas de igual importância.

Na figura 3 apresentamos a cabeça da fêmea em posição ventral. Notamos, a disposição das peças bucais, o reforçamento da sutura hipostomal, a sutura temporal separando as zonas de genas das subgenas, o forame occipital etc. No forame occipital encontramos a sutura post-occipital (Fig. 4, SPC), que forma, para dentro da cavidade occipital, dois côndilos de inserção, onde se vêm articular a região anterior do protórax e os músculos cervicais, que dão movimento a cabeça A sutura occipital, muito desenvolvida nos Ortopteroídeos, está representada nos Embiídeos, sòmente, por uma acentuada linha paralela à post-occipital (SOC).

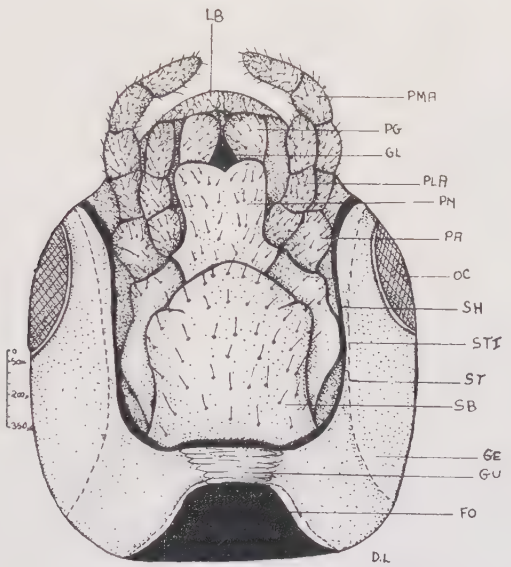


Fig. 3: Cabeça da fêmea vista ventral.
Fig. 3: Kopf des Weibchens von unten gesehen.

Acima da base das mandíbulas temos a sutura pleurostomial (SPL). A sutura hipostomal (SH) é a mais reforçada de tôdas as outras. Está representada por uma linha grossa limitada, posteriormente, pela gula e, lateralmente, pela inserção das maxilas.

Retirando as peças bucais notamos, que a sutura hipostomal forma dos dois lados reforços, que se prendem ao ramo posterior ventral do tentório. A sutura hipostomal varia, devido ao formato diferente da cabeça dos machos e das fêmeas, em tamanho e estrutura, sendo que nas fêmeas é maior e mais resistente que nos machos.

Entre o forame occipital e a região das peças bucais encontramos a gula. Nas fêmeas esta é menor, enquanto que nos machos, devido ao alongamento do crânio, é maior (Fig. 4, GU).

Divisamos outras diferenças em ambos os sexos, não sòmente nas suturas, mas, também, nos olhos e nas antenas.

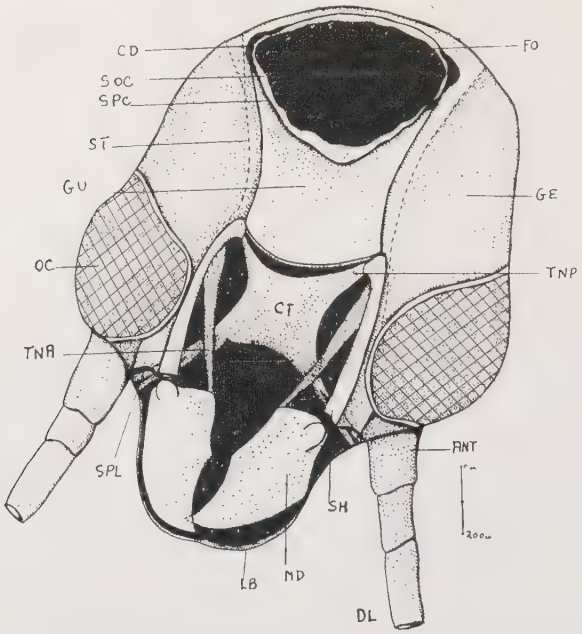


Fig. 4: Cabeça do macho, vista ventral, demonstrando o tentório (CT)
Fig. 4 — Kopf des Maennchens von unten, Labium und Maxillen entfernt, um das Tentorium (CT) zu zeigen.

Conforme dissemos acima, embora as fêmeas sejam maiores que os machos, seus olhos são bem menores, ovais e achatados. Em relação ao tamanho da cabeça são muito reduzidos (Fig. 5, OC). Circundando a cavidade ocular temos a sutura ocular (SO).

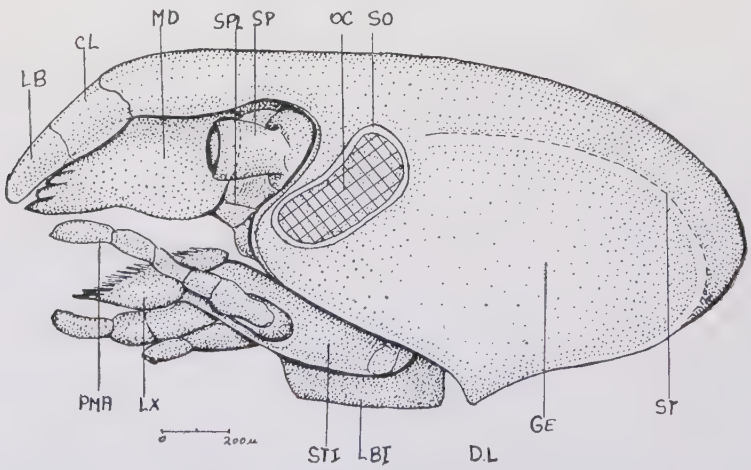


Fig. 5: Cabeça de fêmea vista lateral
Fig. 5: Kopf des Weibchens von der Seite gesehen.

Os machos possuem olhos reniformes, contornando parte das antenas (Fig. 6, OC), e são maiores demonstrando, assim, possuir uma função mais perfeita que a das fêmeas. Supomos que seu tamanho esteja em relação ao seu modo de vida pois, quando êstes atingem a fase adulta procuram logo as fêmeas para a cópula, morrendo a seguir. Em uma área de 9,45 cm³ encontramos o número elevado de 41 omatídeos nas fêmeas e 35 nos machos. Concluimos pois, que, embora os machos tenham os olhos maiores, possuem um número menor de omatídeos que nas fêmeas. Notamos, também, que os omatídeos nêstes são de dimensões maiores, daí a visão nos machos ser mais perfeita que nas fêmeas

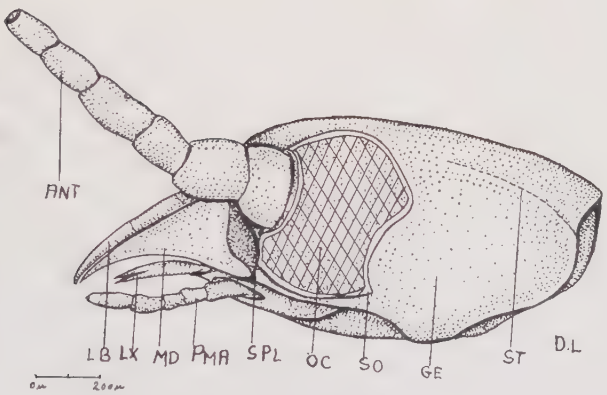


Fig. 6: Cabeça de macho vista lateral
Fig. 6: Kopf des Maennchens von der Seite gesehen.

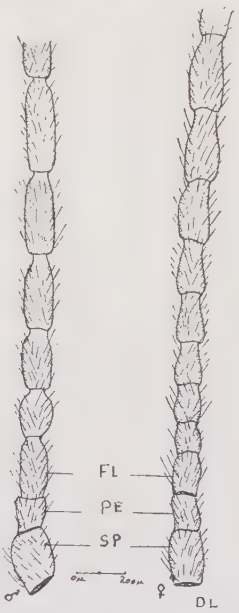


Fig. 7: Antenas de machos e fêmeas
Fig. 7 — Maennliche und weibliche Antenne.

As antenas variam, quanto ao número de segmentos, forma e coloração, nos dois sexos. Estas se inserem na parte lateral da cabeça, em frente aos olhos. A sutura antenal, devido esta posição, é pouco visível, ao contrário do que acontece com outros insetos, cujas antenas são mais dorsais que laterais. Citamos o caso dos *Dermaptera* em que a sutura antenal aparece bem nítida, em forma de um elo em tôrno da inserção das mesmas.

Distinguimos nas antenas três partes, tanto em machos como em fêmeas (Fig. 7); uma região basal ou escapo (SP), o pedicelo (PE) e o flagelo (FL). O escapo fica situado logo acima da sutura pleurostomal (Fig. 5, SPL). A membrana de inserção apresenta algumas dobras na sua porção mais interna, o que facilita o movimento de tôda a antena. A cutícula desta dobra é pregueada entrando, ainda, em contacto com a articulação interna da mandíbula. O pedicelo está situado logo a

seguir ao escapo. É o artículo mais estreito de tôda a antena. No limite, pedicelo-flagelo, a cutícula tem uma estrutura interessante, que não conseguimos, no momento constatar serem sensilas ou não, e que observamos mais, fàcilmente, nos machos adultos que nas fêmeas, contudo estas não deixam de as possuir. O flagelo apresenta-se, em ambos os sexos, com um número variável de segmentos podendo ir de 19 a 21 ou mais. A forma dêstes varia de acôrdo com o sexo (Fig. 7). São como os demais apêndices cefálicos, revestidos de cerdas sensitivas. Muitas vêzes os últimos segmentos do flagelo estão desprovidos de pigmentos.

O esqueleto interno da cabeça está representado por invaginações cuticulares, que servem de inserção aos músculos. Nos insetos pterigotos, o esqueleto interno forma uma peça única denominada tentório, onde se inserem os músculos da região ventral e das antenas, bem como tonofibrilas, que fixam a posição dos órgãos internos.

Nos Embiídeos o tentório corresponde ao tipo primitivo. Possui um corpo central quadrangular (Fig. 4, CT), bem cuticularizado e cuja posição é mais ventral, inclinado em relação ao eixo antero-posterior da cabeça. Para podermos observar melhor o tentório, retiramos o lábio e as máxilas e, em seguida o isolamos com auxílio de agulhas finas. Tanto em machos como em fêmeas, a inserção e formato desta peça não varia, diferenciando-se, apenas, em tamanho. Os dois ramos posteriores do tentório (Fig. 4, TNP) se inserem, ventralmente, na porção final da sutura hipostomal. Os dois ramos anteriores (TNA) dirigem-se à região dorsal do crânio, e na altura da sutura pleurostomal, dividem-se indo, um par inserir-se na base das antenas, e outro na base das mandíbulas.

III — ANATOMIA DO APARÊLHO BUCAL

Labro: O labro, conforme foi dito acima, varia quanto à forma e tamanho nos dois sexos. Nas fêmeas (Fig. 8), além de ser bem maior, é achatado dorso-ventralmente, e seus ângulos externos são mais acentuados que nos machos. Não apresentam o sulco mediano. Na região ventral existem duas fileiras de sensilas (SN), grandes, situadas na zona mediana. Estas são muito interessantes devido a forma que possuem. São longas, com a extremidade arredondada, inserindo-se em uma elevação da cutícula, na região interna do labro, em forma de cone. A sensibilidade do labro nas fêmeas, devido a estas sensilas, torna-se mais acentuada, o que se justifica pelo regime alimentar das mesmas. Na região lateral encontramos um grupo de sensilas ponteagudas, provàvelmente, com uma função idêntica às primeiras. Notamos, ainda por transparência, um espessamento da parte mais interna da cutícula reforçando a articulação (RC) e tornando o labro mais flexível. A dobra ventral interna apresenta um ramo único, que se estende até o bordo lateral e prossegue, anteriormente, originando dois ramos que vão ter a sutura clípeo-labro.

O labro dos machos (Fig. 9) é alongado, com os bordos arredondados, e tendo um sulco pouco pronunciado na extremidade da sua linha

mediana (SU). Assim como o da fêmea, é revestido por diminutas cerdas (CR) na parte dorsal, enquanto que, na região ventral temos duas fileiras de sensilas (SN), que aumentam de tamanho, a medida que se aproximam da extremidade. São pequenas, de pontas afiladas, semelhantes à espinhos. Na região próxima ao bordo formam um maior agrupamento, depois alguns pares e logo a seguir dispõem-se em uma única fileira. Servem, provàvelmente, para controlar o alimento.

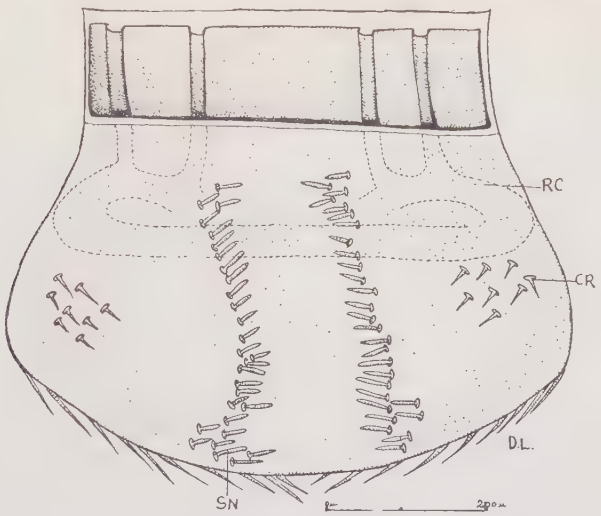


Fig. 8: Vista ventral do labro da fêmea para demonstrar as sensilas
Fig. 8 — Ventralansicht des weiblichen Labrums, um die Sensillen (SN) zu zeigen.

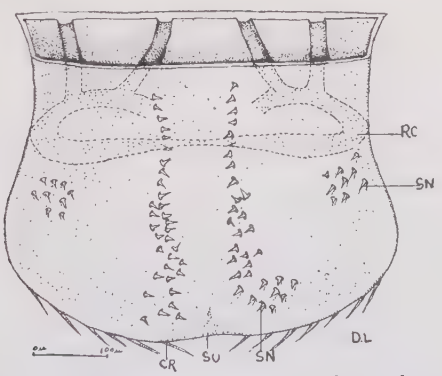


Fig. 9: Vista ventral do labro do macho
Fig. 9 — Ventralansicht des maennlichen Labrums.

Mandíbulas: Constituem os primeiros pares de peças bucais; estão situadas logo após o labro. Podemos, levando em consideração, sòmente, as mandíbulas diferenciarmos com facilidade os dois sexos, mesmo na forma jovem. De tôdas as partes constituintes do aparêlho bucal é, sem dúvida nas mandíbulas, que vamos notar maiores detalhes dife-

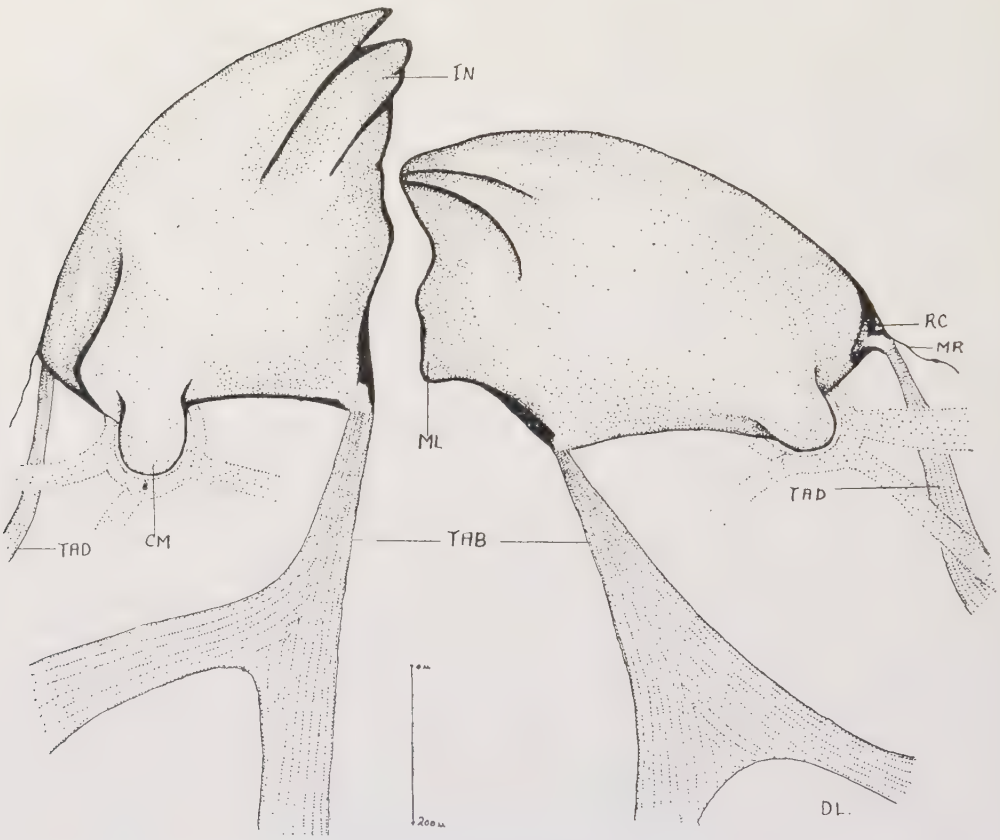


Fig. 10: Mandíbulas da fêmea
Fig. 10 — Weibliche Mandibeln.

renciais nos dois sexos, isto porque esta peça bucal está, ìntimamente, ligada a biologia de ambos.

As mandíbulas das fêmeas (Fig. 10) são muito resistentes, fortes e grandes, sendo bem cuticularizadas, demonstrando sua atividade constante na trituração do alimento. Apresentam três dentes fortes, imóveis, que podemos classificar de incisivos (IN) e molares (ML). Os dois côndilos de articulação (CM) são grandes e fortes. O tendão do MUSCULUS ABDUCTOR MANDIBULARIS (TAB), embora tendo pequena base de inserção, na região reforçada da parte posterior ventral da mandíbula, é muito largo, bifurcando-se após. Em um dos ramos do tendão inserem-se os músculos, que vão ter à região posterior ventral das genas. Pela contração dêstes músculos, as mandíbulas se fecham. Os músculos destinados a abrir as mandíbulas, MUSCULUS ABDUCTOR MANDIBULARIS (TAD), inserem-se na sua região dorsal posterior, em um refôrço cuticular em forma de z (Fig. 10, RC). Pela contração dêstes músculos (TAD) as mandíbulas se abrem. Notamos aqui, a bifurcação do tendão

do músculo abdutor nas fêmeas, enquanto que nos machos êste permanece simples.

A forma, disposição e estrutura destas mandíbulas estão, ìntimamente, ligadas ao regime alimentar das fêmeas (Stefani, 1953 a et b)

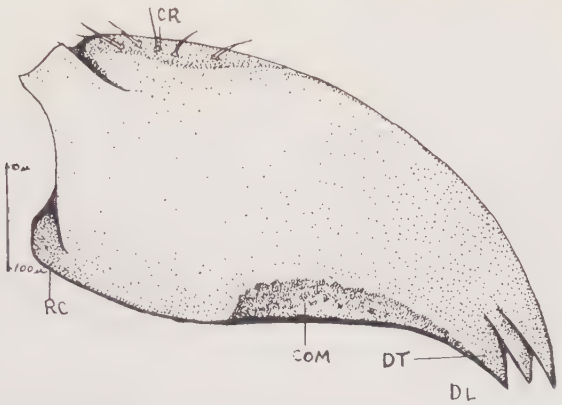


Fig. 11: Mandíbula do macho
Fig. 11 — Maennliche Mandibel.

As mandíbulas dos machos (Fig. 11) são bem menores, menos reforçadas e de forma diferente que as das fêmeas. Na extremidade anterior encontramos três pequenos dentes (D'ï') pouco cuticularizados, portanto, ao contrário do das fêmeas, que atingem a determinada du-

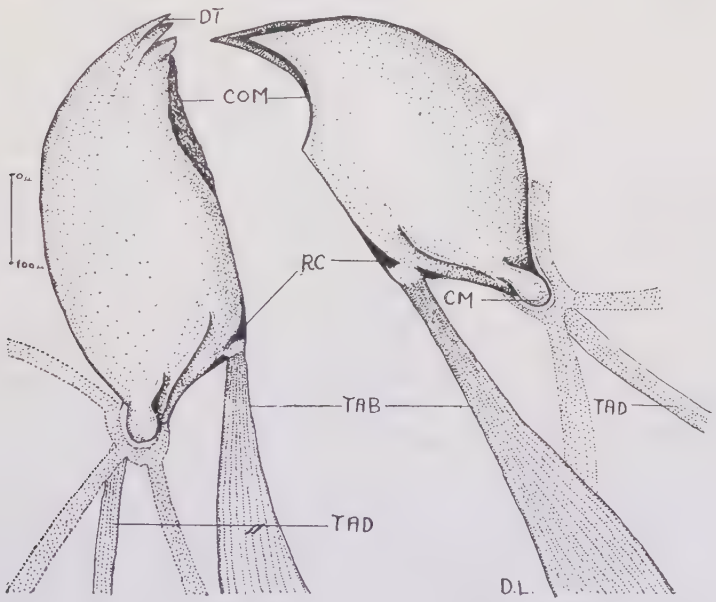


Fig. 12: Mandíbulas do macho em posição normal.
Fig. 12 — Maennliche Mandibeln in natuerlicher Lage.

reza. De acôrdo com a posição em que se observa a mandíbula, os dentes podem ou não ficarem superpostos. No inseto, visto dorsalmente, notamos o primeiro e terceiro dente das mandíbulas; porém fazendo-se uma pequena inclinação nas mesmas, observamos o segundo dente.

A região interna da mandíbula apresenta uma depressão cuticular (COM) muito rugosa, com pequenos reforços elevados, que estão ligados à função que as mesmas exercem. Na extremidade posterior temos dois côndilos (CM) de articulação, formados em sua maior porção, de exocutícula.

No ângulo ventral posterior da mandíbula (Fig. 12, RC) insere-se o tendão abductor (TAB), tendo sua contra-inserção na região posterior ventral da cabeça, próximo às genas. A contração dêstes músculos ocasionam o fechamento das mandíbulas. O músculo responsável pela abertura das mesmas, insere-se no ramo anterior do tentório e na região dorsal posterior das mandíbulas (TAD), sendo menor e menos resistente que o primeiro. Enquanto o tendão do músculo abdutor (TAB) tende a alargar-se, o tendão do músculo aductor (TAD) continua fino, oferecendo pouca base para inserção. Esta disposição anatômica das mandíbulas e suas respectivas inserções, é compreensível se observarmos sua fisiologia. Os machos, quando atingem a fase adulta, quase não se alimentam, ficando esta fase, portanto, destinada a reprodução. A situação e disposição dos músculos, assim como, a forma das mandíbulas confirmam o que já foi descrito por alguns autores, isto é, que a função

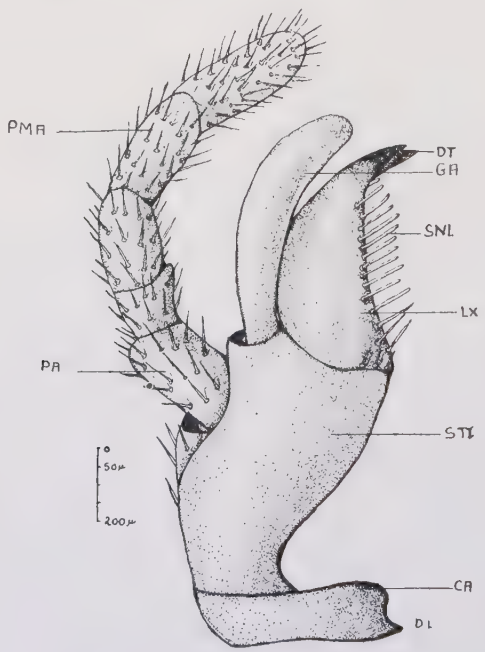


Fig. 13: Maxila da fêmea
Fig. 13 — Weibliche Maxille.

principal destas, no macho adulto, consiste em ajudar no ato da cópula, apreendendo a fêmea pela cabeça e não a deixando escapulir, devido ao mecanismo e, irregularidade de sua estrutura da parte côncava. Esta observação não pôde, infelizmente, ser comprovada embora criássemos em laboratório os exemplares.

Maxilas: Constituem o 2.º par de peças bucais; estão situadas logo abaixo das mandíbulas. Embora não encontrássemos grandes diferenças em ambos os sexos, notamos porém, conforme descrevemos abaixo, pequenas divergências que se acentuam mais, quando isolamos suas partes para melhor estudá-las. Em ambos os sexos as maxílas apresentam: cardo, estipe, lacínia, gálea e palpo maxilar.

As maxílas das fêmeas (Fig. 13) são mais fortes que as dos machos. O cardo (CA) encontra-se perpendicular ao eixo longitudinal da cabeça, enquanto que, as peças restantes, são paralelas ao mesmo. O estipe (STI) é bem esclerotizado, tendo na região externa o palpo maxilar (PMA) e ainda algumas cerdas. O palpo maxilar possue cinco segmentos inclusive o palpífer (PA), e insere-se no ângulo externo do estipe.

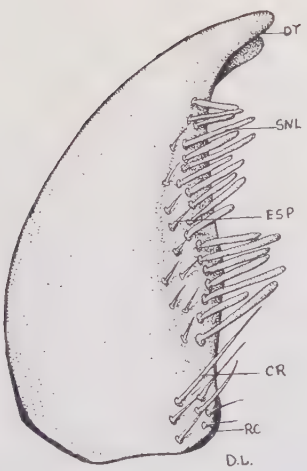


Fig. 14: Lacínia da maxila da fêmea.
Fig. 14 — Lacinie der weiblichen Maxille.

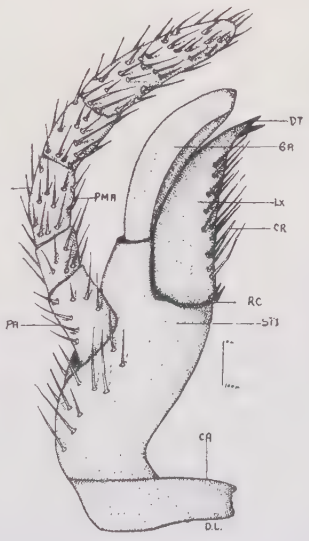


Fig. 15: Maxila do macho
Fig. 15 — Maennliche Maxille.

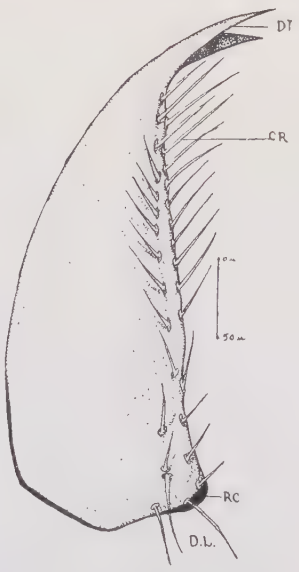


Fig. 16: Lacínia da maxila do macho.
Fig. 16 — Lacinie der maennlichen Maxille.

Entre o palpo maxilar e a lacínia encontramos uma peça, frágil, pouco cuticularizada e não segmentada; é a gálea (GA). Esta é alongada e possue, na região voltada para a lacínia, um pequeno sulco.

De tôdas as partes componentes da maxila, é na lacínia (LX) que encontramos maiores detalhes diferenciais.

Nas fêmeas esta é pequena, forte, sendo mais arredondada que alongada. Possui dois dentes (Fig. 14, DT) bem esclerotizados na extremidade anterior, e na posterior um grupo de pequenas cerdas (CA). Na região mais interna, em relação a maxila, a lacínia apresenta uma série de sensilas (SNL) e espinhos (ESP). Notamos ainda uma depressão na parte interna da mesma, onde as sensilas se dispõem em uma fileira e variam de tamanho. Espalhadas, sem ordem, ao redor desta fileira encontramos pequenos espinhos. A cutícula nesta região da lacínia é menos resistente. As sensilas chamam a atenção do observador pelo seu tamanho, forma e inserção. Sua extremidade é arredondada e sua base dilatada. A inserção faz-se em uma elevação da cutícula em forma de cone. Um estudo mais pormenorizado destas será feito em outra oportunidade.

Os espinhos são pequenos e rígidos. Os que estão situados no ângulo posterior ventral, portanto, fora da zona de depressão da cutícula, são longos, podendo ultrapassar, em comprimento, as sensilas (Fig. 14, CR). A rigídez de tôdas as partes componentes das máxilas da fêmea vem demonstrar sua intensa função.

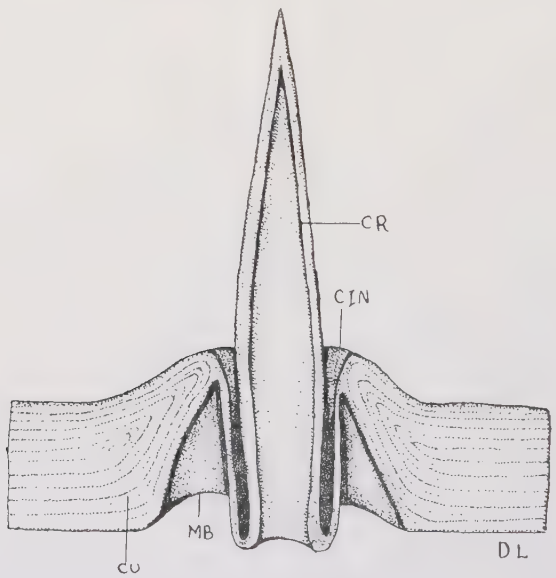


Fig. 17: Corte esquemático de uma sensila da lacínia do macho.
Fig. 17 — Schematischer Laengsschnitt durch eine Sensille der maennlichen Lacinie.

As maxilas dos machos são alongadas e mais frágeis que a das fêmeas. O estipe (STI) é o responsável pelo formato da peça. Apresenta-se pouco reforçado, contendo algumas cerdas espalhadas na parte externa, próximo à inserção do palpo maxilar. Êste (PMA), assim como o do sexo oposto, possui cinco segmentos, sendo que o palpífer (PA) contém menos cerdas que o das fêmeas. A gálea (GA) é longa, tendo na extremidade uma estrutura irregular, rugosa, e na região voltada para

a lacínia um sulco mais acentuado que o das fêmeas. A lacínia (LX) é muito diferente quanto à forma e a estrutura. É comprida, tendo dois dentes ponteagudos (DT) e pouco esclerotizados no ápice. Na zona de inserção da lacínia com o estipe, a cutícula é mais reforçada. Na região interna da mesma (Fig. 16), a cutícula sofre um achatamento formando uma zona plana, margeada por duas fileiras de cerdas longas e sensitivas (CR). Notamos a ausência das sensilas, que encontramos na lacínia das fêmeas.

A figura 17 mostra um corte longitudinal feito em uma cerda sensitiva da lacínia de machos. Vemos, que a cutícula se eleva formando o cone de inserção e neste vem ter a cerda (CR). Esta entra em contacto com a membrana de inserção (MB) que se prende à cutícula. Neste caso trata-se de uma cerda contendo pouco protoplasma.

Lábio: O lábio, secundàriamente ímpar, apresenta pouca diferença morfológica nos dois sexos. Insere-se na sutura hipostomal e na gula. É constituído de várias peças como: submento, mento, premento, paraglossa, glossa e palpo labial.

O submento (Fig. 18, SB) varia de tamanho em ambos os sexos. Articula-se com a gula, que é menor nas fêmeas do que nos machos, devido ao formato do crânio. O mento (M) é pequeno ficando situado em uma região entre o submento e o premento. Nos machos os ângulos externos do mento são mais acentuados. O premento (PM) está localizado logo acima do mento. Êste contém, na parte externa lateral, os palpos labiais (PLA) e, na extremidade, as glossas e paraglossas. Os palpos labiais têm três segmentos, sendo que o último, maior que os outros dois. As paraglossas (PG) são grandes, e quando fechadas delimitam bem a sua área, encobrindo com seu tamanho, pequena porção das glossas (GL). Todo o lábio está revestido, com exceção única das glossas, de pequenas cerdas.

Epifaringe: A epifaringe nos Embiídeos está representada por uma dobra no teto da faringe. A cutícula que a reveste (Fig. 19) possui uma estrutura muito interessante, semelhante a pequenas escamas superpostas (CMA). Analisando, minuciosamente, esta estrutura escamiforme notamos a formação de espinhos nas suas extremidades (ESP). A figura 19 nos dá uma idéia desta, pois representa a cutícula da epifaringe vista de cima. Fazendo um corte longitudinal frontal, pela região da epifaringe de um macho (Fig. 20), notamos que nesta dobra vem se inserir um grande feixe muscular (MUI). A cutícula (CU) estende-se até certa altura da dobra, tornando-se lisa, sem escama ou espinhos, na região mais externa. A inserção dos músculos responsáveis pelo seu funcionamento se faz em um refôrço da cutícula, nesta região, e ainda, no teto da cabeça, próximo à região da fronte.

A epifaringe é mais acentuada nas fêmeas, sendo maior em virtude de ter uma função mais ativa. Em situação oposta a epifaringe, e, portanto, no assoalho da faringe, notamos um espessamento da cutícula que, provàvelmente, reforça a ação da epifaringe. Analisando a figura 21, que representa uma corte longitudinal sagital, feito na região ante-

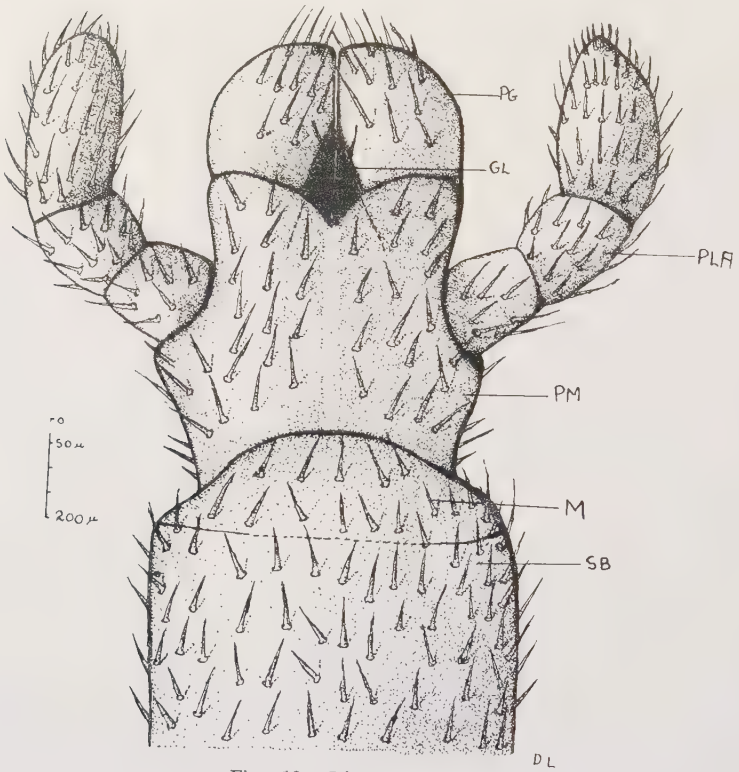


Fig. 18: Lábio da fêmea
Fig. 18 — Weibliches Labium.

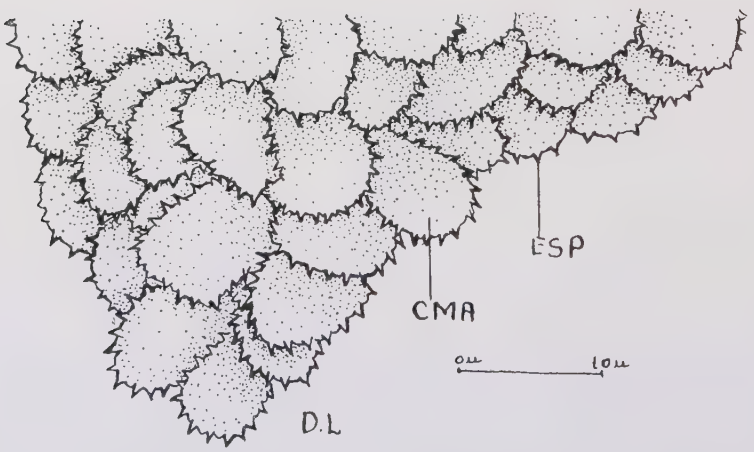


Fig. 19: Estrutura da cutícula da epifaringe
Fig. 19 — Cuticularstruktur des Epipharynx.

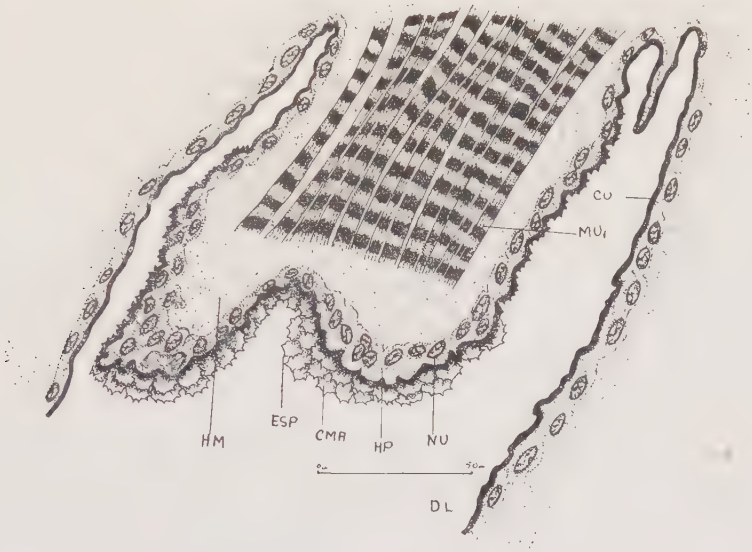


Fig. 20: Corte frontal pela epifaringe.
Fig. 20 — Frontalschnitt durch den Epipharynx.

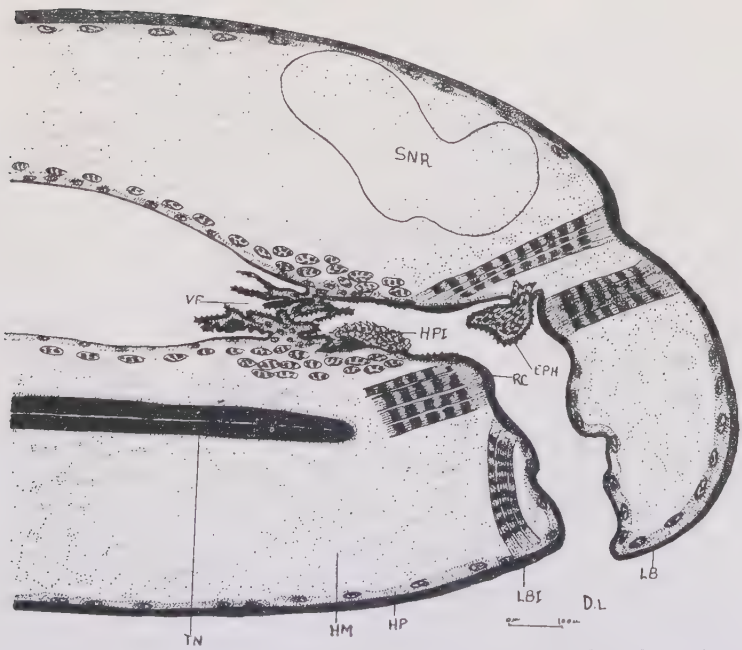


Fig. 21: Corte semi-esquemático sagital pela região mediana da cabeça do macho
Fig. 21 — Halbschematischer Sagitalschnitt durch die mediane Region des maennlichen Kopfes.

rior da cabeça, vemos que na entrada da faringe, a cutícula é lisa e fina, contendo algumas pequenas dobras. A primeira peça a ser destacada é a epifaringe (EPH), devido a sua estrutura e sua situação em frente ao refôrço cuticular (RC). A êste espessamento da cutícula vêm ter músculos destinados a movimentar esta região.

Hipofaringe: Continuando a analisar a figura 21 notamos, ainda, no assoalho da faringe, logo atrás dêste refôrço cuticular e na frente das dobras que formam a válvula faringeana (VF), uma estrutura diferente que varia muito nos dois sexos; ; a hipofaringe (HPI). A hipofaringe é um órgão de grande importância nos insetos, e seu mecanismo muito se iguala à nossa língua.

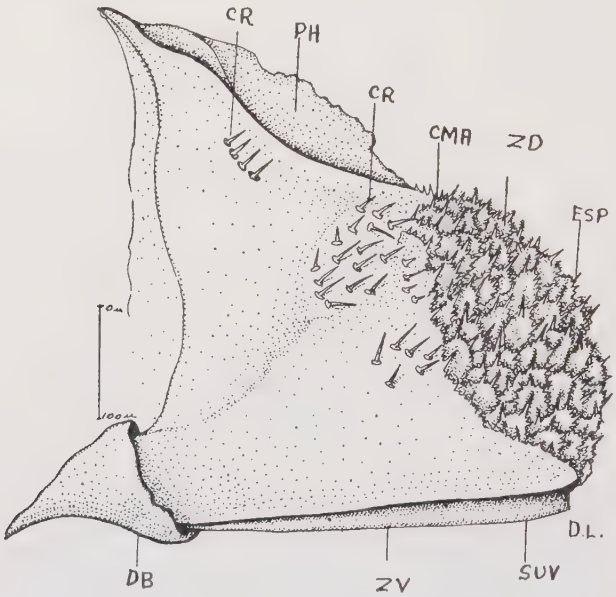


Fig. 22: Hipofaringe da fêmea
Fig. 22 — Hypopharynx des Weibchens.

A hipofaringe nas fêmeas dos Embiídeos (Fig. 22) é grande, tendo origem de uma dobra ventral da faringe. Analisando-a, identificamos uma zona dorsal (ZD) com a cutícula escamiforme, idêntica a da epifaringe, e uma zona ventral, lisa, com sulco bem distinto (ZV). As escamas (SC) situadas na parede ventral da faringe, estão voltadas para dentro do tubo digestivo em direção distal. Seus bordos apresentam espinhos, que se destacam mais ou menos em cada escama, de acôrdo com seu tamanho (ESP). Ainda na zona dorsal, encontramos outros grupos de cerdas (CR). O primeiro grupo, contendo seis ou mais, localiza-se próximo à zona escamosa podendo, porém, variar; o segundo grupo possui mais cerdas, chegando às vêzes a atingir o número de onze ou mais. A cutícula da região lateral da hipofaringe é mais fina que nos bordos, possibilitando-nos ver por transparência alguns reforços

da parte interna. Na zona ventral (ZV), estendendo-se bem na linha mediana, e em tôda região antero posterior, um acentuado sulco (SUV) cuja extremidade mais interna acha-se envolvida por uma dobra da

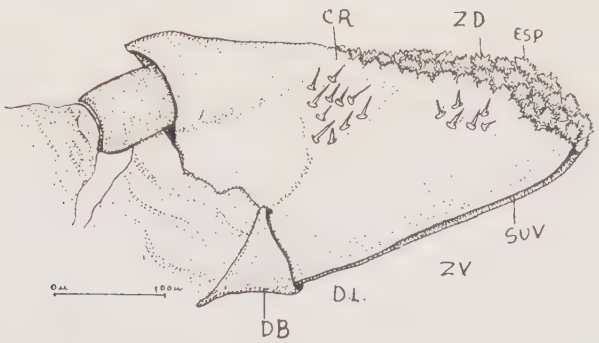


Fig. 23: Hipofaringe do macho
Fig. 23 — Hypopharynx des Maennchens.

cutícula em forma de funil. A função provável desta estrutura consiste em proteger esta zona do sulco.

A hipofaringe dos machos (Fig. 23) é menor e mais alongada que alargada, e apresenta uma forma um pouco diversa das fêmeas. Identificamos, também, uma zona dorsal (ZD) onde predomina a cutícula

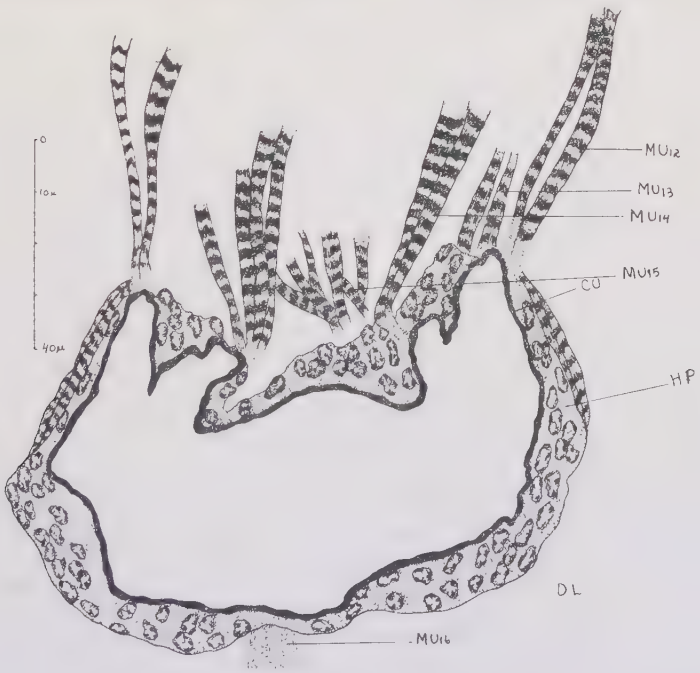


Fig. 24: Corte transversal pela faringe da fêmea
Fig. 24 — Querschnitt durch den weiblichen Pharynx.

escamiforme e alguns espinhos voltados para trás. Na região lateral vemos as cerdas situadas na mesma posição, que aquelas encontradas na hipofaringe das fêmeas (CR). O sulco da zona ventral (SUV e ZV) é menos acentuado, porém encontra-se, também, protegido na extremidade (DB). A hipofaringe em ambos os sexos fica localizada abaixo das duas mandíbulas na linha mediana da cavidade bucal.

Durante a alimentação, a hipofaringe funciona como alavanca, ajudando no transporte do alimento para o interior do intestino e, por intermédio de sua estrutura em forma de escamas e espinhos, fixa e dilacera as partículas menores, que tendem a sair da cavidade bucal. Além desta função, a hipofaringe ainda funciona como órgão auxiliar do sistema salivar, protegendo a entrada da canal salivar e ajudando na distribuição da secreção salivar.

Faringe: Fazendo um corte transversal na faringe da fêmea (Fig. 24) notamos, que esta é revestida de uma cutícula fina e pouco espêssa. À medida que o corte é feito mais para o interior da mesma, vamos notar a formação de algumas dobras, que aumentam, gradativamente de tamanho, e que logo após a hipofaringe vão dar origem a válvula faringeana. Esta válvula possui uma importante função; após deixar passar o alimento, por contração da sua musculatura circular, se fecha retendo o mesmo no esôfago e impedindo-o de voltar a cavidade bucal. Os músculos dilatadores da faringe (MU) tomam parte ativa no movimento e na maceração do bôlo alimentar. O esôfago tem início, aproximadamente, na zona mediana cefálica do inseto (Fig. 21, ES).

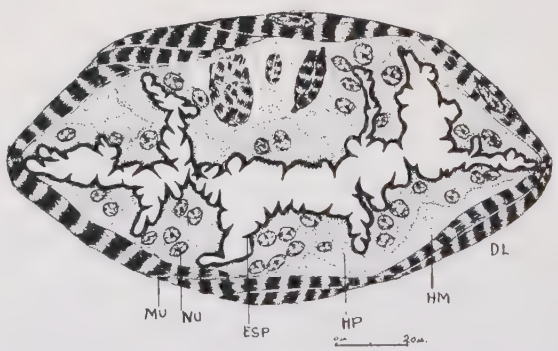


Fig. 25: Corte transversal pela hipofaringe do macho
Fig. 25 — Querschnitt durch den maennlichen Hypopharynx.

A faringe dos machos (Fig. 25) é menor, e a cutícula que a reveste não permanece lisa, mas sim formando espinhos em tôda extensão; as dobras são mais acentuadas e a válvula faringeana maior que nos exemplares fêmeas.

IV — CONSIDERAÇÕES GERAIS

As grandes diferenças encontradas em ambos os sexos de *Embolyntha batesi*, nos tornou possível o presente trabalho, com observações

interessantes. Tratando-se de um grupo de insetos muito primitivo, onde as variações se realizam, constantemente, os Embiídeos formam uma ordem de grande interêsse para os Entomologistas, embora, infelizmente, pouca atenção tenham despertado nêstes, devido, talvez, a escassez do material.

A cabeça dos Embiídeos é formada por numerosos escleritos, cujos limites não são possíveis de se identificar, porém, as suturas principais, resultantes da união dêstes podem ser vistas, com maior ou menor visibilidade, em ambos os sexos.

As fêmeas são maiores que os machos, e suas suturas mais fáceis de serem observadas. A linha em forma de Y, por exemplo, é melhor identificada nas formas adultas de fêmeas, e larvas de ambos os sexos, enquanto que nos machos adultos não é bem nítida. Embora a cabeça se apresente diferente, isto é, abaulada nos machos e achatada nas fêmeas, o tipo característico é prognata. Esta, encontra-se revestida por diminutas cerdas cobrindo tôda a sua área. Nos machos a cabeça é menor, porém, mais pigmentada, o que a torna mais escura em relação a das fêmeas. As suturas coronal e post-frontal são, sòmente, percebidas nas fêmeas e nos machos ainda muito jovens, quando então possuem pouca pigmentação. A sutura coronal corresponde a linha mediana dorsal da cabeça. Partindo desta em alturas diferentes, encontramos as post-frontais, direita e esquerda, que terminam um pouco abaixo da inserção das antenas.

A sutura temporal é mais acentuada nos machos, e forma um pequeno sulco, que penetra no interior do crânio (fazendo parte no esqueleto cefálico). Esta sutura limita as genas do vertex, na região dorsal, e, as genas das subgenas na região ventral. Estende-se a partir da sutura ocular, indo terminar na região ventral próximo a sutura hipostomal.

Nas fêmeas o crânio é achatado uma vez que não há formação dêste sulco.

A sutura hipostomal varia de tamanho nos dois sexos, sendo maior nos machos, porém, mais resistentes nas fêmeas.

A região das genas é mais saliente nos machos e mais achatada nas fêmeas, tornando a cabeça, dos primeiros, alongada, e as destas alargadas.

Os olhos dos machos são reniformes, abaulados, e rodeados por uma nítida sutura ocular. Devido sua forma envolvem parte da base das antenas. Nas fêmeas são menores, alongados e pouco pronunciados; motivo pelo qual os machos têm melhor visão, que as fêmeas.

As antenas são filiformes, variando o número de segmentos de 19 a 21 em ambos os sexos. A inserção das mesmas é diferente com relação aos dois, e, muitas vêzes, os últimos artículos, com exceção do terminal, estão desprovidos de pigmento.

Logo a seguir a fronte temos o clípeo, que se encontra dividido em anteclípeo e postclípeo. A sutura clípeo-fronte é menos acentuada que a clípeo-labro. Notamos, devido a clarificação do material, um espessamento da cutícula na região interna, destinada a inserção dos músculos.

O labro das fêmeas difere do dos machos pelo tamanho, estrutura e forma. Além de ser maior e mais achatado, possui os ângulos externos mais abertos. Na região ventral duas fileiras de sensilas, que logo chamam a atencão pelo formato que apresentam. São compridas com a ponta arredondada, e mais largas que na base. A inserção faz-se em forma de cone. O labro dos machos, bem menor, apresenta um pequeno sulco mediano, e ainda sensilas menores em forma de espinhos Na região lateral, assim como nos das fêmeas, temos outros grupos de cerdas.

Abaixo do labro, que resulta de uma dobra da cutícula, temos o primeiro par de peças bucais, isto é, as mandíbulas.

De todos os apêndices bucais é nas mandíbulas, que vamos encontrar maiores caracteres diferenciais em relação aos sexos e, seria o bastante, sòmente, o que vamos relatar das mandíbulas para que, imediatamente, diferenciássemos, quer na fase jovem ou adulta, os sexos de *Embolyntha batesi*. Apenas pela forma da mesma podemos determinar o sexo nos Embiídeos, sem correrm os o risco de errar, isto devido a função que exercem durante a vida do inseto. As fêmeas possuem mandíbulas, tìpicamente trituradoras, bem cuticularizadas, o que as torna muito resistentes e, apresentando dentes incisivos e molares, e, ainda, dois côndilos de articulação na região lateral interna. Nos machos as mandíbulas são preensoras, servindo como gancho durante o ato da cópula. Na parte mais interna desta peça bucal nos machos, portanto, na zona do gancho, a cutícula forma uma área irregular que facilita mais a apreensão da fêmea. Atendendo a necessidade de maior ou menor esfôrço, durante a sua atividade, o tendão de inserção da musculatura das mandíbulas, destinado a movimentá-las, é maior ou menor, simples ou ramificado.

As maxilas das fêmeas são fortes e muito resistentes, devido, talvez, a função durante a fase alimentar. A lacínia é pequena, reforçada pelo espessamento da cutícula. Na região interna apresenta uma reentrância, onde se implanta uma fileira de sensilas compridas, que serão alvo de posterior estudo. Ainda nesta região temos espinhos e cerdas. Na sua extremidade, encontram-se dois dentes escuros e fortes que contribuem para a maceração do alimento. Nos machos a lacínia, além de menor, é pouco esclerotizada, sendo mesmo frágil, assim como tôdas as outras fileiras de cerdas longas, que delimitam os ângulos internos da lacínia. Na extremidade, os dentes em número também de dois, são fracos e afilados na ponta.

O lábio é a única peça das partes bucais, que não se apresenta tão diferente nos sexos. Seus detalhes diferenciais são mínimos e consiste no ângulo, mais ou menos acentuado, do mento e sub-mento.

O tentório corresponde ao do tipo primitivo. Em ambos os sexos, êste possui um corpo central, cuja posição é inclinada, mais ventral, em relação ao eixo longitudinal da cabeça. Partindo de cada ângulo, temos um ramo. Na região anterior os dois ramos se divergem, dirigindo-se às antenas e mandíbulas, e, os da região posterior dirigem-se para o lado ventral, vindo inserir-se na sutura hipostomal.

Na faringe, vamos encontrar muitas diferenças. Nas fêmeas é lisa na parte anterior, e na parte posterior é revestida de curtos espinhos; já nos machos tôda área possui espinhos. Em ambos os sexos, no teto da faringe, encontramos uma acentuada dobra, que é a epifaringe. A cutícula neste local tem uma estrutura interessante, escamiforme, e cada escama, por sua vez, tem o bordo espinhoso. Em situação oposta a da epifaringe, a cutícula aumenta de espessura, reforçando a inserção muscular. Pela contração e distenção dêstes músculos, seguidos dos da epifaringe, o alimento vai sendo encaminhado para a região distal, ao mesmo tempo que selecionado e macerado. Um pouco mais para trás, ainda no assoalho da faringe, temos outra estrutura, que também faz parte do aparêlho bucal, é a hipofaringe.

Encontramos nesta, algumas diferenças morfológicas em relação ao sexo. A hipofaringe tem uma região dorsal, revestida de escamas de bordos espinhosos, uma região ventral contendo um sulco mais ou menos acentuado, conforme o sexo e lateralmente, algumas cerdas sensitivas implantadas nas partes menos cuticularizadas. A região escamosa fica aderida ao assoalho da faringe, enquanto que o sulco e sua dobra protetora, em forma de capuz na extremidade, fica voltada para a cavidade geral.

Atribuimos à hipofaringe duas funções, quais sejam: a de ajudar no transporte do alimento para o interior do esôfago, e a de proteger a entrada do canal salivar, ao mesmo tempo que, distribui, a secreção salivar sôbre o alimento, facilitando, assim, o início da digestão.

V — RESUMO

Em continuação as pesquisas que vimos realizando nos Embiídeos é feito um estudo comparado das peças bucais e da cabeça entre machos e fêmeas de *Embolyntha batesi*.

A cabeça é prognata recoberta por diminutas cerdas. É a região mais resistente do inseto, devido proteger, além de outros órgãos, principalmente, o sistema nervoso. Varia de tamanho nos dois sexos com os índices (comprimento : largura) na fêmea de 1,06 e nos machos de 1,36; a cabeça da fêmea é achatada, enquanto que a dos machos é alongada. Quase tôdas as suturas são visíveis nos sexos, com excessão de algumas, como é o caso da coronal e post-frontal dos machos. De tôdas as suturas, a temporal é a mais interessante; limita a região do vertex com as genas, ao mesmo tempo que origina um sulco profundo, que penetra na cápsula craniana fazendo parte do esqueleto interno da cabeça, e sendo responsável pelo aspecto diferente das mesmas.

A sutura temporal, na região ventral, separa as genas das subgenas.

A sutura hipostomal, em ambos os sexos, é muito acentuada, e na sua parte mais interna, vêm se inserir os ramos posteriores do tentório, e, ainda lateralmente, as maxilas.

O tentório é primitivo, tendo um corpo central, de forma quadrangular e, de cada ângulo parte um ramo; dois anteriores, menores, que

se dirigem para a região dorsal onde se bifurcam, indo ter próximo à base das antenas e mandíbulas, e dois ramos posteriores que seguem a direção ventral, indo ter à região hipostomal.

As antenas são filiformes, variando o número de segmentos.

Os olhos dos machos são reniformes, salientes e grandes, enquanto que os das fêmeas são pequenos, ovais e achatados. O número de omatídeos de macho é 34, e, na fêmea é 41, em uma determinada área.

O clípeo quase não se diferencia da fronte, porém encontra-se dividido em anti-clípeo e post-clípeo. A sutura do clípeo-labro é bem acentuada, deixando transparecer, após a diafanização do material, um espessamento da cutícula na sua região mais interna, destinada a implantação dos músculos que movimentam o labro.

Na parte ventral o labro apresenta sensilas, que variam quanto a forma, tamanho e estrutura nos dois sexos.

As mandíbulas apresentam-se muito diferentes devida sua função, isto é, trituradora nas fêmeas e preensora nos machos. Pela simples morfologia das mandíbulas podemos identificar o sexo nos Embiídeos. Em ambos temos dentes incisivos e molares, porém mais acentuados nas fêmeas. Nos machos a região interna da mandíbula tem a forma côncava, com cutícula irregular, o que facilita ainda mais a apreensão da fêmea no ato da cópula.

As maxilas são mais fortes nas fêmeas apresentando, porém, em ambos, uma lacínia, cardo, estipe, palpos maxilares e gálea. Os maiores detalhes diferenciais são encontrados na lacínia. Esta, nas fêmeas, é mais esclerotizada, tendo na parte interna uma fileira de sensilas alongadas, cuja forma é interessante. Um estudo pormenorizado será feito *a posteriori*.

A lacínia dos machos é mais frágil, tendo os dentes na extremidade, relativamente, finos.

O lábio é a única parte das peças bucais que não apresenta grandes diferenças.

A faringe está revestida de uma cutícula, lisa nas fêmeas (com exceção na hipofaringe e epifaringe) e com espinhos nos machos.

A epifaringe é uma dobra do teto da faringe onde a cutícula se modifica formando uma estrutura escamiforme. Cada escama tem a extremidade em espinhos.

Pouco atrás da epifaringe, porém, situada no assoalho da faringe, encontramos outra peça do aparelho bucal, que é a hipofaringe. Esta é diferente em ambos os sexos. Sua região dorsal apresenta uma cutícula em forma de escamas, cujos bordos apresentam uma série de espinhos voltados para a zona distal do tubo digestivo. Na parte ventral destaca-se um sulco mais ou menos acentuado de acôrdo com o sexo, e cuja extremidade está protegida por uma dobra em forma de capuz. Atribuimos a hipofaringe duas funções importantes: auxiliar no transporte do alimento, funcionando idêntico a uma língua, e, proteger a entrada da canal salivar, ao mesmo tempo que ajudando na distribuição da secreção salivar.

VI — ZUSAMMENFASSUNG

In Fortsetzung der Embiiden-Studien werden in dieser Arbeit die Mundteile und die Zusammensetzung des Kopfes bei Maennchen und Weibchen von *Embolyntha batesi* vergleichend betrachtet.

Der Kopf ist prognath und von kleinen Borsten besetzt. Er stellt zum Schutz des Nervensystems und der anderen Kopforgane den widerstandsfaehigsten Teil des Koerpers dar. Seine Groesse variiert in beiden Geschlechtern, der Index (Laenge zu Breite) belaeuft sich beim Weibchen auf 1,06, beim Maenchen auf 1,36. Der Kopf des Weibchens ist staerker niedergedrueckt und kurz, der des Maennchens hoeher und laenger. Mit Ausnahme der Coronal- und Postfrontalnaht und einiger kleinerer Naehte beim Maennchen, sind die Naehte in beiden Geschlechtern sichtbar. Die Temporalnaht, die Vertex und Genae trennt, bildet eine tiefe Rille, die in das Innere des Kopfes eindringt und einen Teil des Innenskeletts bildet. Zum Teil traegt diese Naht am Zustandekommen der verschiedenen Kopfformen bei. Ventralwaerts trennt die Temporalnaht die Genae von den Subgenae. In beiden Geschlechtern ist die Hypostomalnaht betont ausgebildet; an ihrem inneren Teil setzen die Tentorialaeste, an ihrem seitlichen die Maxillen an.

Das Tentorium zeigt einen urspruenglichen Bau mit einem Zentralkoerper von fast quadratischem Umriss. Nach vorne gehen aus den Ecken zwei Arme ab, die sich dorsalwaerts wenden und dann sich verzweigen; ein Ast setzt nahe der Antennenbasis, der andere an der Einlenkung der Mandibeln an. Die hinteren Tentorialaeste bleiben ventral und gehen zur Hypostomalnaht.

Die Antennen sind fadenfoermig und besitzen eine variierende Anzahl von Gliedern.

Die grossen Augen der Maennchen sind nierenfoermig und vorspringend. Die Anzahl der Omatidien verhaelt sich wie 34 (beim Maennchen) zu 41 (beim Weibchen) auf eine bestimmte Region bezogen.

Der Clypeus ist nur undeutlich von der Stirn abgesetzt; er ist in Clypeus und Anteclypeus eingeteilt. Die Clypeus-Labrum-Naht ist stark ausgebildet, sie dringt in das Innere ein und dient den Labrummuskeln als Ansatz.

Das Labrum besitzt auf seiner Unterseite Sensillen, die in Form, Groesse und Struktur bei beiden Geschlechtern verschieden sind.

Die Mandibeln sind in den beiden Geschlechtern stark unterschiedlich gebaut, was wahrscheinlich mit ihrer Funktion in Verbindung steht. Beim Weibchen werden sie zum Kauen, beim Maennchen zum Festhalten bei der Copulation gebraucht. Durch die Morphologie der Mandibeln lassen sich beide Geschlechter unterscheiden. Die Incisivi und Molares sind beim Weibchen staerker ausgebildet als beim Maennchen. Bei diesem ist die Innenseite concav mit warzig-faltiger Cuticula als Haftflaeche bei der Copula.

Die Maxillen, beim Weibchen staerker ausgebildet, besitzen Cardo, Stipes, Lacinia, Galea und Palpen. Die Lacinien der Weibchen sind staerker sklerotisiert und besitzen auf ihrer Innenseite eine Reihe langer Sensillen mit auffallender Struktur. Das Studium dieser Organe verbleibt fuer eine andere Publikation. Die Lacinien der Maennchen sind schwach, ohne Sensillen und mit nur feinen Zaehnen an der Spitze.

Das Labium zeigt in beiden Geschlechtern etwa denselben Bau.

Der Pharynx der Weibchen ist mit einer glatten Cuticula ausgekleidet (abgesehen von Hypopharynx und Epipharynx). Beim Maennchen besitzt seine Cuticula feine Dornen.

Der Epipharynx stellt eine Falte des Pharynxdaches dar. Seine Cuticula ist schuppenfoermig. Jede Schuppe endet in einem Dorn.

Der Hypopharynx liegt wenig hinter dem Epipharynx auf der Ventralseite des Pharynx. Er ist in beiden Geschlechtern unterschiedlich gebaut. Seine Dorsalzone besitzt eine schuppige Cuticula, die Schuppenraender besitzen nach hinten geneigte Dornen. Der ventrale Teil besitzt eine je nach dem Geschlecht staerker oder schwaecher ausgebildete Rinne, die an ihrem Ende durch eine ueberfallende Falte geschuetzt wird. Der Hypopharynx hat zwei Funktionen: Er nimmt am Nahrungstransport wie eine Zunge teil und schuetzt den Ausgang des Speichelkanals und verteilt die Speichelfluessigkeit ueber die Nahrung.

VII — BIBLIOGRAFIA

Barth, R., 1953, Método de trabalho na Anatomia e Histologia entomológica. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz,* 51: 95-186.

Barth, R., 1954, I. Untersuchungen an der Tarsaldruesen von Embolyntha batesi Mac Lechlan, 1877 (Embioidea). *Zool. Jb.* (Anat.), 74: 172-188, 22 figs.

Barth, R., 1958, Métodos usados em Microanatomia e Histologia entomológica. *Mem. Inst. Osw. Cruz* (no prelo).

Barth, R. et Lacombe, D., 1955, II. Estudos anatômicos e histológicos do ducto intestinal de Embolyntha batesi Mac Lachlan, 1877 (Embiidina). *Mem. Inst. Osw. Cruz,* 53: 67-86, 34 figs.

Crampton, G. C., 1932, A phylogenetic of the head capsule in certain Orthopteroid, Psocoid, Hemipteroid and holometabolous insects. *Bull. Brook. Entom. Soc.,* 19-50, 1-49, figs., 5 pls.

Crampton, G. C., 1921, The Sclerites of the head, and the Mouth-parts of certain immature and adult insects. *Ann. Ent. Soc. America,* XIV, n.º 2: 65-110.

Denis, R., 1949, Ordre der Embiiptéres. In: Grassé, *Traité de Zoologie,* Masson & Cie., Paris, IX: 723-744, 366-380 figs.

Ferris, G. F., 1942, Some observations of head of insects. *Microentomology,* 7: n.º 2, 25-44, 10-27 figs.

Frriedrichs, K., 1906, Zur Biologie der Embiiden. *Mitt. Zool Mus.,* Berlin, 3: 213-240, 19 figs.

Henson, H., 1950, On the head capsule and mouth parth of Forficula auricularia Linn. (Dermaptera). *Proc. Roy. Ent. Soc. of London* (S.A.) 25: 10-18, 2 figs.

KRAUSS, H. A., 1911, Monographie der Embiiden. *Zool.*, 23: 1-76, 7 figs. 5 pls.

LACOMBE, D., 1958, Contribuição ao estudo dos Embiídeos. III. Aparêlho respiratório de Embolyntha batesi Mac Lachlan, 1877 (Embiidina). *Studia Ent.*, I: 177-195, 17 figs.

LIMA, A. da Costa, 1939, *Insetos do Brasil*, Esc. Nac. Agron., Rio de Janeiro, Série Didática 2, vol. 1, 109-114 págs., 4 figs.

SNODGRASS, R. R., 1935, *Principles of Insects Morphology*. New York.

STEFANI, R., 1953 a, Un particulares modo di accoppiamento negli insetti Embioptteri *R. C. Acad. Licei.*, Rome (8) 14: 544-549, 7 figs.

STEFANI, R., 1953 b, La fisiologia dell accoppiamento in Haploembia solieri Ramb. (Embioptera, Oligotomidae). *R. C. Acad. Licei*, Rome (8) 15: 211-216.

VERHOEFF, K. W., 1904, Zur vergleichenden Morphologie und Systematik der Embiiden(Nova Acta, Halle, 1945, 205, 4-7 pls.

VII — ABREVIAÇÕES NAS FIGURAS

ACI: Anteclípeo
ANT: Antenas
CA: Cardo
CD: Côndilo occiptal
CIN: Cone de inserção
CL: Clípeo
CM: Côndilo mandibular
CMA: Escamas
COM: Concavidade mandibular
CR: Cerda
CT: Corpo tentório
CU: Cutícula
DB: Dobra cuticular
DT: Dentes
EPH: Epifaringe
ESP: Espinhos
FO: Forame occiptal
FL: Flagelo
FR: Fronte
GA: Gálea
GE: Genas
GL: Glossa
GU: Gula
HM: Hemolinfa
HP: Hipoderme
HPI: Hipofaringe
IN: Incisivos
LB: Labro
LBI: Lábio
LX: Lacínia
M: Mento
MB: Membrana de inserção
MD: Mandíbula
ML: Molares
MR: Membrana de articulação
MU1: Musculatura da epifaringe
MU12,13...16: Musculatura da faringe
NU: Núcleo
OC: Ocelos
OP: Occipital
PA: Palpifer
PE: Pedicelo
PG: Paraglossa
PH: Faringe
PLA: Palpos labiais
PM: Premento
PMA: Palpos maxilares
RC: Refôrço cuticular
SB: Submento
SC: Sutura coronal
SCI: Sutura do clípeo
SCL: Sutura do clípeo-labro
SH: Sutura hipostomal
SN: Sensilas
SNL: Sensilas da lacínia
SNR: Sistema nervoso
SO: Sutura ocular
SOC: Sutura occipital
SP: Escapo
SPC: Sutura post-occiptal
SPF: Sutura post-frontal
ST: Sutura temporal
STI: Estipe
SU: Sulco
SUV: Sulco ventral
TAB: Tendão abductor
TAD: Tendão aductor
TNA: Ramo anterior do tentório
TNP: Ramo posterior do tentório
VF: Válvula faringeana
VX: Vertex
ZD: Zona dorsal da hipofaringe
ZV: Zona ventral da hipofaringe

ESTAMPA 1

Foto A: Macho de asas abertas
Foto A: Maennchen mit geoeffneten Fluegeln.

Foto B: Macho e fêmea
Foto B: Maenchen und Weibchen.

Estudos sôbre Longicórneos Neotrópicos (Coleoptera, Cerambycidae)*

por
Dmytro Zajciw
Rio de Janeiro

BRASILIANUS TESTACEICORNIS MELZER, 1923

Êste interessante representante do gênero foi descrito por MELZER, baseado só em três fêmeas, procedentes de Minas Gerais (Passa Quatro e Água Suja). O famoso pesquisador dos Longicórneos de nosso país lamentou que êle não tivesse obtido, para descrição, o macho desta espécie, como *B. garbei* Melz., *lasiocerus* (Gah.), com dimorfismo sexual muito desenvolvido e os caracteres dos machos bem peculiares. Na coleção do Dr. C. A. CAMPOS SEABRA encontramos uma série de 7 ♂ e 10 ♀ e temos a possibilidade, pela primeira vez, de estudar os machos e apresentar aqui a descrição do alótipo.

> Allotypus ♂: feminae similis sed: antennis apicem elytrorum paulo superantibus, articulo ultimo praecedente paulo longiore; elytris a basi ad apicem sensim attenuatis; fomoribus posticis abdominis segmenti quarti medium vix attingentibus.
> Long. 29 mm, lat. 8,5 mm.
> Hab. Paraná, Cachoeirinha.

♂. — Quase completamente igual à ♀, apenas com as distinções seguintes: antenas um pouco mais compridas que o corpo, ultrapassando a extremidade dos élitros sòmente com o último artículo; êste mais longo que o penúltimo, mais achatado, nos seus 2/3 com uma cicatriz transversal e um pequeno dentículo no lado interior, o qual dá idéia de um apêndice; élitros ligeiramente estreitados para trás e um pouco menos convexos; fêmures posteriores atingem o meio do 4.º segmento abdominal; comprimento do corpo 30-40 mm, largura umeral 8,5-11 mm.

Para comparação apontamos aqui os respectivos caracteres das fêmeas: antenas mais curtas que o corpo, atingindo sòmente os quatro primeiros quintos dos élitros, com o último artículo do comprimento do

* Com auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas.
Recebido para publicação em 9 de setembro de 1958.

penúltimo, menos achatado, nos seus 3/4 com uma cicatriz transversal e um pequeno dentículo, quase obsoleto, no lado inferior; élitros subparalelos, mais convexos; fêmures posteriores atingem o meio do 3.º segmento abdominal; comprimento do corpo 32-40 mm, largura umeral 9-12 mm.

Armamento das antenas igual em ambos os sexos, a saber: artículos 3º-10º com espinhos-dentes gradualmente diminuídos desde a base até o ápice, art. 3º-5º com espinhos mais compridos, mais finos e mais afilados no ápice, art. 7º-10º possuem os processos mais aproximados à forma do dente, art. 3º com espinho muito curvado para a base das antenas, o 4º com espinho apenas pouco curvado, sobretudo, o 5º com espinho reto, nos art. 6º-10º os ápices dos dentes dirigidos um pouco para frente, em direção do ápice das antenas.

A área de distribuição desta espécie ocupa a parte do Sul do Centro-Oeste, Leste e Sul (até agora sem Rio Grande do Sul) do Brasil. O material examinado tem a seguinte procedência:

Centro-Oeste. — Est. de Mato Grosso: Caxim, 1940 (A. Maller leg.)
Estado de Goiás: Rio Verde, 1, 7. XII. 1941, 7. XI, XII. 1945.
Leste. — Estado de Minas Gerais: Manhumirim, III. 1935; Araxá, XI. 1938 (A. Maller leg.)
Estado do Espírito Santo: Tijuco Preto, 1940 (A. Maller leg.)
Sul. — Estado de São Paulo: Cachoeirinha, XII. 1939; Itapeva, I. 1939, I. 1940 (A. Maller, leg.)
Estado do Paraná: Arapoti, II. 1941, XI. 1951 (A. Maller leg.)
Estado de Santa Catarina: Jaraguá, III. 1939 e Corupa, III. 1953 (A. Maller leg.)

VOLXEMIA DIANELLA LAMEERE, 1884

Em 1884, Lameere descreveu um representante da tribo Eburiini, *Volxemia dianella*, que desde essa época, senão nos Catálogos, não é mencionada na literatura. Por outro lado, não a encontramos até hoje em nenhuma das grandes coleções do Brasil.

Só no início do ano de 1957, o Dr. C. A. Campos Seabra recebeu uma remessa de Longicórneos do Estado do Espírito Santo, onde tivemos a agradável surprêsa de encontrar um exemplar esquisito de espécie não conhecida para nos, mas com todo o complexo dos caracteres da tribo Eburiini. Apesar de que alguns caracteres genéricos e específicos fujam da descrição original, o estudo minucioso nos levou a identificar o exemplar como *Volxemia dianella* Lam.

Êle tem os seguintes caracteres genéricos diferentes: a) a fronte é em declive e não vertical; b) esta não revela duas protuberâncias, e c) élitros não uniespinhosos, mas, armadas, além do espinho externo, também com um pequeno espinho sutural, sendo assim biespinhosos. Os caracteres genéricos, que faltam, podem ser bem importantes para a caracterização de alguns outros gêneros, mas na tribo Eburiini êles são muito variáveis e neste caso, julgamos que êles podem ser ignorados.

Da descrição da espécie o exemplar estudado difere pelas côres, distribuídas de outra maneira, a saber: cabeça, protórax e uma quinta parte basal dos élitros são rufo-ferrugíneos; a 1.ª linha externa ebúrnea continua até o primeiro sexto dos élitros, as duas outras linhas ebúrneas não atingem o meio dos élitros. A espécie foi descrita sôbre exemplares precedentes, um do Botafogo (Rio de Janeiro) e dois outros do Brasil, sem indicação de localidade precisa. O exemplar da coleção do Dr. C. A. Campos Seabra tem os dados seguintes: Estado do Espírito Santo, Córrego do Itá, XI. 1956 (W. Grossmann leg.).

STHELENUS BUQUET, 1859

O gênero *Sthelenus* abrange três espécies pouco conhecidas, que nunca tínhamos encontrado nas coleções do Brasil. Recentemente o Dr. C. A. Campos Seabra recebeu dois exemplares, os quais, depois de estudados detalhadamente, conseguimos determinar como machos de *Sthelenus braconinus* Bates e *Sth. ichneumoneus* Buq. Comparando-os entre si e com as descrições originais, podemos constatar uma série de caracteres morfológicos e esculturais, não mencionados pelos autores precedentes, que, julgamos, podem servir com o maior efeito para a distinção destas duas espécies, próprias também à fauna do Brasil.

Tendo sòmente dois machos, deixamos a redescrição completa de ambas as espécies para o futuro, quando esperamos obter material mais amplo dos dois sexos, e nos limitaremos agora, sòmente à confrontação dos caracteres distinguíveis.

Sthelenus braconinus Bates. ♂. — Antenas mais longas relativamente ao corpo, com artículos basais mais engrossados; tubérculos anteníferos no ápice arredondados com um tubérculo mameliforme separado; ângulos inferiores das genas bem afilados; protórax na parte anterior escurecido, no pronoto a côr preta continua bem mais para trás, as elevações transversais no disco bem desenvolvidas e bem limitadas na frente pela impressão transversal do pronoto; pontuação grossa e não densa; élitros com pontuação mais grossa e esparsa, bem distinta, na metade basal com pubescência rala, no ápice mais largamente acuminados, quase arredondados; a parte das alas, não cobertas pelos élitros, escurecida, quase preta; fêmures anteriores e intermédios totalmente rufo-flavos; tíbias anteriores e posteriores curvadas, as posteriores dilatadas e achatadas.

0 exemplar estudado de procedência do Estado do Amazonas, Tefé, I. 1958 (R. Carvalho leg.).

Sthelenus ichneumoneus Buq. ♂. — Antenas mais curtas relativamente ao corpo, com artículos basais mais finos; tubérculos anteníferos no ápice sem tubérculo separado; ângulos inferiores das genas subretos; protórax completamente rufo, pronoto com duas elevações transversais no disco subobsoletas, pouco limitadas na frente, com pontuação muito fina e densa; élitros nos lados do disco, entre os úmeros e faixa preta transversal, escurecidos, com pontuação muito fina e densa, pouco vi-

sível, na metade basal com pubescência bem densa, no ápice mais estreitamente acuminados; a parte das alas, não coberta pelos élitros, de côr clara; clavas dos fêmures anteriores e intermédios (como também dos posteriores) escurecidos; tíbias anteriores subretas, apenas ligeiramente curvadas, as posteriores retas, subobcônicas, arredondadas.

O exemplar estudado de procedência do Estado do Amazonas, Manaus, Paredão, 18.III.1956 (Mozarth e Roppa leg.).

XENOCRASIS BATES, 1873

Em 1873 Bates descreveu à base de uma fêmea, coletada em Nova Friburgo (Brasil, Estado do Rio de Janeiro), um novo gênero *Xenocrasis* com espécie *badeni*; a descrição é seguida pelo seguinte trecho: "Xenocrasis presents a strange mixture of characters of true Necydalinae and Rhinotraginae. Its distant and not enlarged eyes, and laterally carinated forehead, remove it from the latter group, to which it is nevertheless more nearly allied than any genus of Necydalinae with which I am acquainted".

Aurivillius (1912) e Blackwelder (1946) colocam êste gênero em Rhinotragini.

Determinando os representantes de Rhinotragini da coleção do Dr. C. A. Campos Seabra, encontramos uma série de 2 ♂ e 7 ♀ de *X. badeni* e tivemos a possibilidade de estudar os caracteres genéricos, específicos (apontados por Bates muito sucintamente) e sexuais desta interessante espécie. Podemos confirmar, que apesar de ter os olhos volumosos e contíguos na fronte em ♂, os élitros subulados e vítreos, as pernas posteriores muito alongadas com as cerdas bem compridas nas tíbias, etc., caracteres próprios aos Rhinotragini, um conjunto dos outros caracteres, muito importantes, como o desenvolvimento fraco dos lobos externos maxilares, a forma cilíndrica do último artículo dos palpos, as coxas anteriores cônicas e fortemente salientes, cavidades coxais anteriores abertas atrás, etc. aproximam o gênero em questão de Necydalini. Aproveitando a chave de Lacordaire (1869) para determinação do gênero, nos chegamos sempre a esta última tribo. Sem dúvida, *Xenocrasis* fica fora das duas tribos mencionadas, ocupando o lugar intermediário entre elas.

É conhecido que Necydalini e Rhinotragini são grupos pouco pesquisados; os primeiros, compreendem gêneros tão diferentes, como, por exemplo, *Necydalis* da Ásia oriental e *Rhathymoscelis* da América do Sul, que em nossa opinião devem ser divididos em futuro; por essa razão abstemo-nos agora de mudar a posição sistemática de *Xenocrasis* e tencionamos sòmente chamar a atenção para os caracteres do gênero, da espécie (completando-os) e de ambos os sexos, dando a descrição de alótipo ♂.

Gênero *Xenocrasis* Bates. — Rosto não (♂) ou pouco (♀) alongado, palpos subiguais, com o último artículo subcilíndrico, cortado no ápice; lobos externos do maxila não ultrapassam os palpos; fronte em

♀ carenada nos lados; olhos subfinamente granulados, profundamente recortados. Antenas mais curtas que o corpo, gradualmente engrossadas para o ápice, não serradas, de 11 artículos, com o último apendiculado. Protórax cilíndrico, levemente alargado na parte anterior, convexo; escutelo pequeno, subtriangular, arredondado no ápice; élitros ultrapassam um pouco o 3.º segmento abdominal, subulados, no ápice alargados e arredondados, com a superfície vítrea; metatórax muito engrossado; cavidades coxais anteriores um pouco angulosas, abertas atrás, intermédias largamente abertas externamente; coxas anteriores cônicas, salientes, não contíguas; processo prosternal muito estreito, sublameliforme, alargado no ápice, processo mesosternal mais largo; metaepisternos largos, estreitados no ápice. Pernas posteriores muito alongadas; fêmures pedunculados na base, abruptamente clavados no ápice; os posteriores quase atingem ou pouco ultrapassam a extremidade do abdômen; tíbias posteriores muito compridas, com densa pilosidade; tarsos posteriores cêrca de três vêzes mais curtos que as tíbias respectivas.

♂: Rosto muito mais curto que o diâmetro dos lobos inferiores dos olhos; êstes grandes, ocupam a maior parte da cabeça, contíguos na frente; abdômen cilíndrico, com o último segmento transverso.

♀: Rosto mais longo, cêrca do comprimento do diâmetro dos lobos inferiores dos olhos; êstes menores, distantes na frente; fronte com carenas longitudinais nos lados; abdômen estreitado para o ápice, com o último segmento alongado e estreitado para o ápice.

Espécie *Xenocrasis badeni* Bates, ♂. — Obscuro-ferrugineus; caput et prothorax omnino, meso- et metathorax lateraliter nigris; elytra vitrea, pallida, sutura, marginibus apibusque obscuris; antennae omnino obscurae, vel articulis 8-11 albis; rostrum valde breve; oculi magni, antice contigui; abdomen cylindricum, segmento ultimo transverso, postice tumido et vix impresso, margine postico truncato, angulis externis acutis.

♂: Coloração muito parecida da da ♀; ferrugíneo-pardacento-preto; cabeça, pronoto, os lados do meso e metatórax pretos; élitros pálidos, vítreos, com sutura, margens e ápices escurecidos; antenas com os 7 primeiros artículos escuros e os 4 últimos branco-sujos ou, às vêzes, também escuros; abdômen ferrugíneo, com ápice escurecido; pernas ferrugíneas, com bases dos fêmures pálidas e partes dos fêmures e as tíbias às vêzes escurecidas; tarsos posteriores quase brancos.

Cabeça robusta, incluindo os olhos mais larga que o protórax; olhos grandes, ocupam a maior parte da cabeça, contíguos na frente; rosto muito curto, de comprimento de cêrca 3 1/2 vêzes menor que sua largura; vértice longitudinalmente carenado; antenas ultrapassam o 3.º segmento abdominal, cêrca do mesmo comprimento dos élitros, não serradas, na parte basal finas, com o 7.º art. obcônico, gradualmente engrossado para o ápice e os 8.º-11.º cilíndricos, mais grossos; os primeiros 7 artículos no lado inferior com pêlos amarelos, longos e ralos.

Protórax um pouco mais longo que largo, levemente constrito perto da borda posterior, densamente pontuado com pubescência prateado-esbranquiçada muito fina; no disco com uma quilha longitudinal pouco evidente e duas elevações laterais obliquas e lisas. Escutelo com pilosidade prateada densa. Élitros ultrapassam o 3.º segmento abdominal, largas na base, no segundo quarto começam a estreitar-se, na região correspondente ao 2.º segmento abdominal muito encurvados do lado exterior (da margem), depois alargam-se e ficam convexos, lembrando uma gôta de líquido preto caindo; arredondados no ápice, deiscentes; a maior parte do disco pálido-vítrea, com pontuação fina e esparsa.

Primeiro artículo dos tarsos posteriores cêrca de 1 1/2 vêzes mais longo que os 2.º e 3.º em conjunto. Último segmento do abdômen subtransversal, túmido na parte posterior, no lado inferior perto da borda distal escavado e recortado, tendo nos ângulos posteriores tubérculos em forma piramidal. A face inferior do corpo com pontuação muito fina e pubescência prateado-branca.

Comprimento do corpo 9,5-11 mm.

Alótipo: ♂ com procedência do Brasil, Estado de Santa Catarina, Mafra, XII.1937 (A. Maller, leg.).

Um outro macho da mesma procedência com data XII.1938 e mais um da antiga coleção de Bosq com rótulo "Sur Brasil, Buck leg.".

Distribuição geográfica. — É conhecida até agora sòmente dos Estados do Rio de Janeiro e de Santa Catarina.

Variabilidade. — Já três indivíduos examinados mostram a variabilidade em coloração das diferentes partes do corpo. Um exemplar tem antenas com os primeiros sete artículos pretos e os restantes de côr branco-suja (com ápice do último preto); dois outros com antenas inteiramente pretas; pernas posteriores podem ser completamente ferrugíneas com a base dos fêmures pálida; nos outros exemplares as partes distais dos fêmures e as bases das tíbias são mais ou menos escurecidas e os tarsos tornam-se quase brancos.

ONCIDERES CASTANEA DILLON ET DILLON, 1946

São conhecidas só três fêmeas — um holótipo e dois parátipos, o primeiro com proveniência do Rio de Janeiro. Damos a descrição do alótipo macho.

> Allotypus ♂. Caput inter antennas sat concavum, fronte latitudine longior, tuberibus antenniferus magis approximatis et magis productis; antennae corpore sesqui longiores, scapo robusto, art. 3.º elongato, cylindrico, valde incrassato, art. 4.º cylindrico, perparum incrassato, art. 5.º obconico; prothorax latitudine perparum brevior; coxae anticae tuberculo brevissimo obtuso armatae; abdominis segmentum ultimum praecedente quarta parte longior, apice truncatum, haud impressum.

♂. Fronte relativamente mais estreita que na ♀, sendo um pouco mais longa que larga, entre as antenas mais côncava; tubérculos antenais mais aproximados entre si e mais proeminentes que na ♀, tendo o lado externo vertical e o lado interno curvado; antenas 1 1/2 vêzes o comprimetno do corpo, com escapo bem robusto, o 3.º art. alongado, cilíndrico e engrossado, o 4.º também cilíndrico e bem grosso, o 5.º obcônico, os restantes cilíndricos, de finura normal. Protórax menos transversal que na ♀, com a largura só um pouco maior que o comprimento (na ♀ protórax é mais que 1 1/2 vêzes mais longo que largo); procoxas munidas no lado inferior com um dente muito curto, obtuso; último esternito cêrca de 1 1/4 vêzes mais longo que o penúltimo, truncado no ápice, sem impressão triangular. — Comprimento do corpo 12 mm, largura umeral 4 mm.

O exemplar, que serviu para descrição do alótipo, é proveniente do Estado do Espírito Santo, Córrego do Itá, XI. 1955 (W. Grossman, leg.) e está guardado na coleção do Dr. C. A. Campos Seabra.

Queremos acrescentar o dimorfismo sexual que se revela nesta espécie, o ♂ tendo artículos basais bem engrossados, igualmente, como se observa nas espécies *O. ulcerosa* (Germ.), *etiolata* Dill. et Dill., *crassicornis* Bates, com a diferença, que estas três têm engrossado sòmente o 3.º artículo antenal.

COLOBOTHEA SOCIA GAHAN, 1889

Na diagnose latina desta espécie está mencionado, que "prothorace supra utrinque late univittato"; mais adiante, no texto inglês êste carácter é repetido e acrescentado, para marcar a diferença de *C. amoena* Gah. que "there is a single broad vitta on each side of the thorax above instead of two"; aqui lemos em parêntesis ("in one of the three specimens each vitta is divided by an incomplete narrow black line"). Temos dois exemplares desta espécie em nossa coleção (11.IV.1956 e 25.III.1957, O. e D. Zajciw leg.) e examinamos também três exemplares da coleção do Dr. C. A. Campos Seabra (30.I., 5.IV.1958, Seabra e Alvarenga leg.), todos coletados no Rio de Janeiro, Corcovado, 700 m *. Dos cinco indivíduos, só dois são ornados com uma larga linha de cada lado do disco do protórax; os três restantes apresentam de cada lado duas linhas, mais ou menos afastadas entre si e ligadas anterior e posteriormente; estas linhas (agora já em número de quatro) permanecem bem largas e nunca se tornam tão estreitas, como em *C. amoena*.

Os caracteres mais importantes para distinguir *socia* de *amoena* ficam: 1) ausência dos tubérculos laterais lisos antes dos ângulos posteriores do protórax; 2) úmeros, apesar de obliquos, mais salientes, não formam a continuação dos lados do protórax; 3) manchas nos élitros relativamente mais largas, deixando o espaço preto muito menor que em *amoena*; 4) máculas laterais nos lados do abdômen ul-

* Sôbre a distribuição desta espécie ainda não sabemos nada; ela foi descrita com origem geral "Brasil"; aqui publicamos os primeiros dados precisos.

trapassam a margem distal do 1.º segmento e a margem proximal do quinto segmento, e não se limitam pelos três segmentos intermédios, como observamos em *amoena*.

Consideramos que o número das linhas claras no protórax não é constante e que é preferível aproveitar os outros caracteres para distinguir o grupo das espécies com 6 (8) manchas brancas ou amarelas nos élitros.

Para estimular o estudo dêste gênero, damos abaixo uma chave prática preliminar para determinar as espécies brasileiras, que além de não constituírem um grupo natural, todos se caracterizam pelas manchas grandes brancas ou amarelas nos élitros, em número de 6 ou 8, e apontamos também a distribuição delas no Brasil.

É preciso prestar atenção, que existem duas espécies, *Sangaris octomaculata* Aurivil. e *S. condei* Melz. (do gênero muito próximo de *Colobothea*), que se parecem com os representantes do grupo em questão e podem ser confundidos com êles; além das carenas laterais muito curtas, próprias dêste gênero, *S. octomaculata* se distingue fàcilmente pela linha mediana flavo-branca, que se inicia na fronte e passa pelo protórax branco pubescente com três linhas dorsais escuras retas e de largura igual, pela presença de linhas brancas obliquas nos élitros perto do escutelo, etc.

Chave preliminar prática para determinação das espécies do grupo do gênero *Colobothea* Ser., 1825, com 6 (8) manchas claras nos élitros.

1. — Protórax no disco sem linhas longitudinais (nos lados com 3 linhas transversais). — Estado do Amazonas: Ega.
flavomaculata Bates

— Protórax no disco com 2,4 ou 6 linhas claras longitudinais, mais ou menos largas 2

2. — Úmeros muito salientes, retos ou subretos 3
— Úmeros pouco ou não salientes, obliquos 5

3. — Protórax sem tubérculos laterais, no disco com uma larga linha clara de cada lado 4
— Protórax com tubérculos laterais antes dos ângulos posteriores, no disco com 3 linhas claras de cada lado — Est. do Espírito Santo: Parque Sooretama, Córrego Itá.
flavoguttata Auriv.

4. — Linhas claras discais do protórax largamente afastadas entre si, prolongando-se para a frente sôbre a cabeça, debaixo dos olhos; vértice preto, não maculado. — Estado de Minas Gerais: Município de Virgínia, Fazenda dos Campos; Estado do Rio de Janeiro: Itatiaia; Distrito Federal: Corcovado, Floresta da Tijuca; Estado de São Paulo: Cantareira, Indiana, Jabaquara, Marília, Peruíba; Estado do Espírito Santo: Córrego Itá, Parque Sooretama, Tijuco Preto; Estado de Santa Catarina: Curupá.
cassandra Dalm.

— Linhas claras discais quase contíguas, não prolongando-se na cabeça; vértice com duas máculas claras grandes, obliquas. — Estado da Bahia.

sexmaculata Auriv.

5. — Protórax com tubérculos laterais antes dos ângulos posteriores; úmeros muito obliquos, continuando em uma linha com a margem lateral do protórax; só 2.º, 3.º e 4.º segmentos abdominais com manchas claras laterais. — Estado da Bahia; Est. do Espírito Santo: Córrego Itá, Parque Sooretama.

amoena Gah.

— Protórax sem tubérculos laterais; úmeros pouco obliquos, não continuando em uma linha com a margem lateral do protórax; manchas claras dispostas nos lados do abdômen na margem distal do 1.º segmento, nos segmentos 2.º, 3.º e 4.º e na margem proximal do 5.º segmento. — Distrito Federal: Corcovado.

socia Gah.

SUMMARY

In this paper, based on the study of the materials of the collections belonging to Dr. C. A. Campos Seabra and the author's own, the author gives the additional characters of the rare species *Volxemia dianella* Lam., *Sthelenus braconinus* Bates and *Sth. ichneumoneus* Buq., the redescription of the genus *Xenocrasis* Bates, the descriptions of allotypes of the males of *Brasilianus testaceicornis* Melz., *Xenocrasis badeni* Bates and *Oncideres castanea* Dill. & Dill., and the key for the determination of the species *Colobothea* Serv. with 6 (8) pale spots on the elytra. All these species are from Brazil.

As **MEMÓRIAS,** órgão oficial do Instituto Oswaldo Cruz, destinam-se, precìpuamente, à publicação de trabalhos originais nêle realizados. Aparecerão em fascículos distintos, ou em tomo completo, conforme as conveniências editoriais.

Toda a correspondência deverá ser dirigida a

MEMÓRIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
CAIXA POSTAL 926 - ENDÊREÇO TELEGRÁFICO; "MANGUINHOS" RIO
RIO DE JANEIRO -- BRASIL

IBGE
SERVIÇO GRÁFICO
RIO DE JANEIRO - BRASIL